

Ana Carolina Moura de Sena Aquino

**CARACTERIZAÇÃO DAS ÁGUAS SOBRENADANTES DA
FERMENTAÇÃO DE AMIDO DE MANDIOCA: ÁCIDOS
ORGÂNICOS E SUAS RELAÇÕES COM AS PROPRIEDADES
DO POLVILHO AZEDO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito final à obtenção do grau de Doutora em Ciência dos Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Edna Regina Amante

Florianópolis

2015

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Aquino, Ana Carolina Moura de Sena
Caracterização das águas sobrenadantes da fermentação de
amido de mandioca: ácidos orgânicos e suas relações com as
propriedades do polvilho azedo / Ana Carolina Moura de
Sena Aquino ; orientadora, Edna Regina Amante -
Florianópolis, SC, 2015.
228 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-
Graduação em Ciência dos Alimentos.

Inclui referências

1. Ciência dos Alimentos. 2. Amido de mandioca. 3.
Polvilho azedo. 4. Água de fermentação de amido de
mandioca. 5. Ácidos orgânicos. I. Amante, Edna Regina. II.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-
Graduação em Ciência dos Alimentos. III. Título.

Ana Carolina Moura de Sena Aquino

**CARACTERIZAÇÃO DAS ÁGUAS SOBRENADANTES DA
FERMENTAÇÃO DE AMIDO DE MANDIOCA: ÁCIDOS
ORGÂNICOS E SUAS RELAÇÕES COM AS PROPRIEDADES
DO POLVILHO AZEDO**

Esta tese foi julgada adequada para obtenção do título de DOUTOR EM CIÊNCIA DOS ALIMENTOS e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 27 de fevereiro de 2015.

Roseane Fett, Dr.

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos

Banca Examinadora:

Edna Regina Amante, Dr.

PGCAL/CCA/UFSC - Presidente

Carmen Maria Olivera Müller, Dr.

PGCAL/CCA/UFSC

Deise Helena Baggio Ribeiro, Dr.

PGCAL/CCA/UFSC

Ivo Mottin Demiate, Dr.

UEPG

Marcelo Ribani, Dr.

TECPAR

Valéria Reginatto Spiller, Dr.

USP

Dedico este trabalho ao meu amor Tiago Aquino,
grande companheiro e incentivador
na realização desse sonho.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por estar no controle da minha vida, me capacitando e permitindo que eu siga em busca dos meus sonhos.

Aos meus pais, **Rose Mary e Evônio**; irmãos, **Ana Luiza e André Luís**; e sobrinhos, **Lucas, Arthur e Ana Luiza**, por compreenderem os motivos da minha mudança de cidade e me apoiarem nessa decisão, pois mesmo distantes continuam me fortalecendo com o seu amor.

Ao meu amado marido e companheiro de todas as horas **Tiago Aquino**, por ser o maior incentivador na luta pela conquista desse título, sem o seu apoio tudo seria mais difícil. Muito obrigada por sempre segurar na minha mão e estar pronto para trilhar ao meu lado qualquer caminho que a vida me apresente. Te amo muito!

À minha orientadora, professora **Edna Regina Amante**, pela confiança, pelo incentivo e por representar um grande exemplo de profissional na carreira acadêmica e por compartilhar a sua admirável experiência.

Aos professores **Ana Carolina Costa, Carmen Müller, Deise Baggio, Ivo Demiate, Marcelo Ribani e Valéria Reginatto** primeiramente por aceitarem o convite para participar da banca examinadora e pelas relevantes contribuições a este trabalho.

À professora **Deise Baggio**, pela indispensável ajuda nas análises de cromatografia líquida, cujos ensinamentos, conselhos e paciência foram fundamentais para a realização dessa etapa.

À professora **Ana Carolina Costa**, pelo apoio e por permitir a realização das análises de eletroforese capilar no Laboratório de Química de Alimentos (LabQA), juntamente com a **Mônia Azevedo**, uma pessoa especial que me ajudou sem medir esforços nas muitas análises, sempre com um sorriso cativante tornando o trabalho mais leve. Para sempre serei grata pela sua ajuda e pelo prazer da sua companhia, pois nossos dias de trabalho me renderam muito mais que dados, contruímos uma amizade.

Aos **Professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos (PGCAL)** da UFSC pelos ensinamentos.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos**, pela oportunidade, como também ao secretário **Sérgio de Souza** pela disposição em me atender todas as vezes que precisei.

Às colegas de doutorado, **Amanda Bagolin** e **Stephanie Pinto**, as primeiras pessoas que tive contato e convivi na UFSC, pela companhia nos estudos, descobertas e conversas.

A **todos do Laboratório de Frutas e Hortaliças**, pela convivência nesses anos, pelo bate-papo na hora do cafezinho, por compartilharem comigo seu dia a dia e por toda a ajuda nos momentos mais difíceis da pesquisa, os guardarei para sempre nas minhas boas lembranças. Especialmente aos estagiários **Lucas Watanabe** e **Vanessa Gervin** pelas muitas horas de dedicação para a realização dessa pesquisa, sem os quais eu não teria conseguido ir tão longe.

Aos amigos de laboratório **Lucas Watanabe** e **Evellin Balbinot**, que sempre estarão no meu coração, pela confiança depositada em mim e pelas tantas conversas e risadas.

Ao **Rodolfo Moresco**, pela colaboração com a análise estatística multivariada.

Ao **Sr. Bento**, pelo bom dia de todas as manhãs e pela sempre simpatia e prontidão em ajudar.

Às minhas amigas **Mariana Ribeiro** e **Mariana Siebert**, pelo apoio e pela torcida ao longo dessa jornada, pelos momentos de diversão e por entenderem quando eu demorava para responder as mensagens no aplicativo de bate-papo.

Ao **Sr. João Paulo Teixeira** e ao **Sr. Elton da Silva**, representantes da Associação das Indústrias Processadoras de Mandioca e Derivados de Santa Catarina (AIMSC), e ao **Sr. Marco Antônio Reimor**, engenheiro agrônomo da Secretaria de Agricultura da Prefeitura Municipal de Sangão, pela disposição em nos orientar e acompanhar durante as visitas às polvilharias do sul do estado.

A **todos os produtores de polvilho azedo** que gentilmente permitiram as visitas em suas polvilharias e forneceram informações e amostras possibilitando a realização deste trabalho.

À **Capes** e ao **CNPq**, pelo financiamento e pela bolsa concedida para a realização deste trabalho.

A melhor recompensa ao realizar uma tarefa é sentir que o possível foi feito, e no final a sensação do dever cumprido. Agradeço a todos que torceram por mim e que de alguma forma contribuíram para essa importante conquista na minha vida. **MUITO OBRIGADA!**

“O futuro pertence àqueles que acreditam na
beleza de seus sonhos”

Eleanor Roosevelt

RESUMO

Primeiramente este trabalho objetivou avaliar, através da caracterização das águas sobrenadantes e das propriedades de expansão do polvilho azedo, o processo fermentativo do amido de mandioca por meio do efeito da adição de glicose em relação ao método tradicional. A adição de glicose reduziu o tempo do processo fermentativo em 13 dias (40,6%), e o polvilho azedo obtido pelo método modificado apresentou, em apenas 19 dias de fermentação, propriedades de expansão semelhantes ou até mesmo superiores às do polvilho azedo comercial. A definição do tempo de fermentação através da determinação da acidez titulável e do pH e do volume específico pode contribuir tanto para a retirada do amido fermentado quanto para futuras aplicações das águas da fermentação como matéria prima para novos produtos, uma vez que quando o amido é retirado dos tanques para a secagem, as águas residuais com alta acidez são consideradas efluentes. Em seguida, as técnicas de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com fase reversa e de eletroforese capilar (EC), ambas com detecção de arranjo de diodos, foram avaliadas e comparadas para a determinação de ácidos orgânicos (ácido láctico, ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico) nas águas da fermentação do amido de mandioca, com a perspectiva de contribuir para aplicações futuras dessas águas ainda consideradas resíduos agroindustriais, bem como o maior entendimento das alterações envolvidas no processo de produção do polvilho azedo. Todos os parâmetros de validação atenderam os critérios aceitos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária e não foram verificadas diferenças significativas entre os métodos em termos de performance analítica para os ácidos analisados. No entanto, devem ser levadas em consideração as vantagens da EC em relação à CLAE, como menor custo, menor geração de resíduos e menor tempo de análise (< 2 minutos). Como estudos relacionando a composição das águas sobrenadantes com as propriedades do polvilho azedo são inexistentes, este trabalho também visou avaliar e correlacionar as características físico-químicas e a quantificação dos ácidos orgânicos de amostras de polvilho azedo e de suas respectivas águas sobrenadantes durante a fermentação modificada e tradicional. Os ácidos acético e butírico predominaram nas amostras analisadas e foram os que mais contribuíram para a acidez titulável do polvilho azedo produzido nas condições deste estudo. Os resultados da análise multivariada mostraram que a principal característica do polvilho azedo, a expansão, possui baixa correlação com os ácidos

orgânicos presentes no produto. Por fim, as condições do processo produtivo de polvilho azedo em polvilharias do estado de Santa Catarina foram avaliadas, envolvendo a caracterização das amostras de águas de fermentação e de polvilho azedo coletadas nessas unidades visando uma futura intervenção para padronização, e consequente valorização, do processo como também do produto. A padronização das práticas produtivas pode representar uma importante iniciativa para minimizar as diferenças entre os polvilhos obtidos, concorrendo para a padronização. O cenário apresentado revelou que as variações, principalmente em relação ao tempo de fermentação, não permitem agrupar os amidos fermentados obtidos por parâmetros de qualidade que reflitam o processo empregado, o que dificulta o reconhecimento do produto para mercados mais exigentes.

Palavras-chave: amido de mandioca, polvilho azedo, fermentação, água de fermentação, água residual, ácidos orgânicos.

ABSTRACT

First this study aimed to evaluate, through the characterization of supernatant water and the sour cassava starch expansion properties, the fermentation process of cassava starch through the effect of the addition of glucose compared to traditional method. The addition of glucose reduced the fermentation process time in 13 days (40.6%), and the sour cassava starch obtained by the modified method presented in only 19 days of fermentation, similar expansion properties or even better than commercial sour cassava starch properties. The definition of fermentation time by determining the total acidity, pH and specific volume can contribute to the withdrawal of the fermented starch and also for future applications of water fermentation as raw material for new products, since when the starch is removed from the tanks to the sun drying, this wastewater with high acidity is considered an effluent. Then the techniques of high performance liquid chromatography (HPLC) with reverse phase and capillary electrophoresis (CE), both with diode array detection, were evaluated and compared for the determination of organic acids (lactic acid, acetic acid, propionic acid and butyric acid) in waters fermentation of cassava starch, with a view to contributing to future applications of these waters still considered agroindustrial waste, and greater understanding of the changes involved in the sour cassava starch production process. All validation parameters were according to the requirements of Brazilian Health Surveillance Agency and no significant differences were found between the methods in terms of analytical performance for the compounds analyzed. However, should be taken into consideration the benefits of EC in relation to the HPLC, as lower cost, less waste and less time analysis (<2 minutes). As studies related the composition of the supernatant water with sour cassava starch properties are nonexistent, this study also aimed to evaluate and correlate the physical and chemical characteristics and the quantification of organic acids of sour cassava starch samples and their respective supernatant waters for the modified and traditional fermentations. Acetic and butyric acids predominated in the samples and were the main contributors to the acidity of sour cassava starch produced under the conditions of this study. The results of multivariate analysis showed that the main attribute of cassava starch, expansion, has low correlation with organic acids present in the product. Finally, the conditions of the production process of sour cassava starch in factories of the state of Santa Catarina were evaluated, involving the

characterization of samples of fermentation water and sour cassava starch collected in these factories aimed at future action for greater standardization, and subsequent process appreciation as well as the product. The results presented showed that the irregularities, especially regarding the fermentation time, do not allow group fermented starches obtained by quality parameters that reflect the process employed, which difficults the product recognition for the most demanding markets.

Keywords: Cassava starch, Sour cassava starch, Fermentation, Water fermentation, Wastewater, Organic acids

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

- Figura 1** Estrutura química da (a) amilose e da (b) amilopectina. 44
- Figura 2** Fluxograma do processo de produção de polvilho azedo. 49
- Figura 3** Micrografia de microscopia eletrônica de varredura (2000x) de grânulos de amido nativo e fermentado (polvilho azedo) de mandioca. A1 e A2: amido nativo industrial; B1, B2, B3 e B4: polvilho azedo. 54

Capítulo 2

- Figura 1** Fermentação de amido de mandioca conduzida em condições laboratoriais. 93
- Figura 2** Fluxograma dos procedimentos para obtenção/coleta das amostras de água de fermentação de amido de mandioca. 94
- Figura 3** Variação do pH da água sobrenadante em função do tempo de fermentação do polvilho azedo pelos métodos tradicional (●) e modificado (▲) a partir de amido de mandioca comercial. 97
- Figura 4** Variação da acidez total titulável (ATT) da água sobrenadante em função do tempo de fermentação do polvilho azedo pelos métodos tradicional (●) e modificado (▲) a partir de amido de mandioca comercial. 100
- Figura 5** Variação dos sólidos totais da água sobrenadante em função do tempo de fermentação do polvilho azedo pelos métodos tradicional (●) e modificado (▲) a 104

partir de amido de mandioca comercial.

Capítulo 3

- Figura 1** Cromatogramas a 220 nm dos padrões dos ácidos (A) I - lático, II - acético, III - propiônico e (B) IV - butírico 200 mg L⁻¹. **130**
- Figura 2** Cromatogramas a 220 nm (A) dos ácidos I - lático e III - propiônico na amostra diluída duas vezes; (B) dos ácidos I - lático e III - propiônico na amostra, diluída duas vezes, com adição da mistura dos padrões 200 mg L⁻¹; (C) do ácido II - acético na amostra diluída 50 vezes; (D) do ácido II - acético na amostra, diluída 50 vezes, com adição de padrão 200 mg L⁻¹; (E) do ácido IV - butírico na amostra diluída 50 vezes; (F) do ácido IV - butírico na amostra, diluída 50 vezes, com adição de padrão 200 mg L⁻¹. **131**
- Figura 3** Eletroferogramas A. amostra branco diluída duas vezes; B. mistura padrão de ácidos orgânicos a 25 mg L⁻¹; C. amostra branco diluída duas vezes adicionada de mistura padrão de ácidos orgânicos a 25 mg L⁻¹; I. ácido trifluoroacético (PI) a 250 mg L⁻¹; II. ácido acético; III. ácido lático; IV. ácido propiônico; V. ácido butírico. **133**

Capítulo 4

- Figura 1** Análise de componentes principais (PCA) da quantificação de ácidos orgânicos e das propriedades de expansão de amostras de polvilho azedo durante a fermentação. M: fermentação modificada; T: fermentação tradicional; índices de 1 a 5: diferentes tempos de coleta de amostra. **167**

Capítulo 5

Figura 1	Exemplos de tanques de fermentação de amido de mandioca encontrados durante as visitas para coleta de amostras em polvilharias de Santa Catarina.	192
Figura 2	Exemplos de processos de secagem de polvilho azedo encontrados durante a visita para coleta de amostras em polvilharias de Santa Catarina (A) sistema de barcas (B) sobre jiraus cobertos com lonas pretas e (C) uso das duas práticas.	194
Figura 3	Amilogramas de amostras de polvilho azedo coletadas em polvilharias do estado de Santa Catarina no período de julho de 2013 a julho de 2014.	206
Figura 4	Corpos de prova produzidos com amostras de polvilho azedo coletadas em polvilharias do estado de Santa Catarina no período de julho de 2013 a julho de 2014.	210
Figura 5	Influência da acidez na propriedade de expansão de amostras de polvilho azedo.	211

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1	Trabalhos realizados com as águas de fermentação de amido de mandioca e suas respectivas conclusões.	58
Tabela 2	Propriedades gerais e estruturas moleculares dos ácidos orgânicos analisados nas águas de fermentação de amido de mandioca.	60

Capítulo 2

Tabela 1	Valores de pH da água sobrenadante em relação ao tempo e ao método durante a fermentação do polvilho azedo pelos métodos tradicional e modificado a partir de amido de mandioca comercial.	99
Tabela 2	Valores de ATT da água sobrenadante em relação ao tempo e ao método durante a fermentação do polvilho azedo pelos métodos tradicional e modificado a partir de amido de mandioca comercial.	102
Tabela 3	Valores de sólidos totais da água sobrenadante em relação ao tempo e ao método durante a fermentação do polvilho azedo pelos métodos tradicional e modificado a partir de amido de mandioca comercial.	105
Tabela 4	Índice de expansão de biscoitos produzidos com polvilhos azedos obtidos através de métodos de fermentação tradicional e modificado.	106
Tabela 5	Volume específico de biscoitos produzidos com polvilhos azedos obtidos através de métodos de fermentação tradicional e modificado.	108
Tabela 6	Densidade específica de biscoitos produzidos com polvilhos azedos obtidos através de métodos de	109

fermentação tradicional e modificado.

Capítulo 3

Tabela 1	Concentrações de ácidos acético, láctico, propiônico e butírico empregadas para a construção das curvas de calibração - CLAE.	125
Tabela 2	Concentrações de ácidos acético, láctico, propiônico e butírico empregadas para a construção das curvas de calibração - EC.	126
Tabela 3	Performance analítica para os métodos de CLAE e EC.	135
Tabela 4	Concentração (mg L^{-1}) de ácidos orgânicos em amostras de água de fermentação de amido de mandioca por CLAE e EC, em diferentes tempos de fermentação.	138

Capítulo 4

Tabela 1	Características físico-químicas de águas de fermentação de amido de mandioca na produção de polvilho azedo, em condições laboratoriais, por processo tradicional e modificado.	154
Tabela 2	Características físico-químicas de amostras de polvilho azedo obtidas em condições laboratoriais, por processos de fermentação tradicional e modificado.	157
Tabela 3	Concentração de ácidos orgânicos e % do total de ácidos em amostras de água de fermentação de amido de mandioca em diferentes métodos e tempos de fermentação realizada em condições laboratoriais.	161
Tabela 4	Concentração de ácidos orgânicos e % do total de ácidos em amostras de polvilho azedo obtidas em diferentes métodos e tempos de fermentação realizada em	165

condições laboratoriais.

Tabela 5	Correlação linear de Pearson entre as concentrações de ácidos orgânicos e as propriedades de expansão em amostras de polvilho azedo.	168
-----------------	--	------------

Capítulo 5

Tabela 1	Informações fornecidas pelos responsáveis por polvilharias de Santa Catarina durante a coleta de amostras quanto à matéria prima e condições do processo fermentativo de amido de mandioca.	190
Tabela 2	Temperaturas máximas e mínimas das cidades de Santa Catarina onde foram realizadas as coletas das amostras.	195
Tabela 3	Caracterização físico-química de amostras de águas de fermentação de amido de mandioca coletadas em polvilharias do estado de Santa Catarina no período de julho de 2013 a julho de 2014.	197
Tabela 4	Caracterização físico-química de amostras de polvilho azedo coletadas em polvilharias do estado de Santa Catarina no período de julho de 2013 a julho de 2014.	199
Tabela 5	Concentração de ácidos orgânicos e % do total de ácidos em amostras de água de fermentação de amido de mandioca coletadas em polvilharias do estado de Santa Catarina no período de julho de 2013 a julho de 2014.	201
Tabela 6	Concentração de ácidos orgânicos e % do total de ácidos em amostras de polvilho azedo coletadas em polvilharias do estado de Santa Catarina no período	204

de julho de 2013 a julho de 2014.

Tabela 7 Propriedades de pasta de amostras de polvilho azedo **207**
coletadas em polvilharias do estado de SC no período
de julho de 2013 a julho de 2014.

Tabela 8 Propriedades de expansão dos corpos de prova **209**
produzidos com polvilho azedo coletadas em
polvilharias do estado de SC no período de julho de
2013 a julho de 2014.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists</i>
ATT	acidez total titulável
BGE	<i>background electrolyte</i>
BIS-TRIS	ácido benzóico, bis(2-hidroxietil)amino tris(hidroximetil)metano
CLAE	cromatografia líquida de alta eficiência
CNNPA	Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos
CTAB	brometo de cetiltrimetilamônio
CV	coeficiente de variação
CZE	eletroforese capilar de zona
DAD	detector de arranjo de diodos
DMSO	dimetilsulfóxido
DNS	ácido 3,5-dinitrosalicílico
EC	eletroforese capilar
EOF	fluxo eletrosmótico
FPM	força próton motriz
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
LOD	limite de detecção
LOQ	limite de quantificação
<i>n</i>	número de medidas
<i>p</i>	nível de significância
PCA	análise de componentes principais
PI	padrão interno
PTFE	politetrafluoretileno

R^2 coeficiente de determinação

UV/Vis ultravioleta/visível

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	33
Capítulo 1 - Revisão Bibliográfica	37
1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	39
1.1 AMIDO DE MANDIOCA	39
1.2 AMIDO DE MANDIOCA FERMENTADO	46
1.2.1 Processo de produção	48
1.2.2 Água sobrenadante da fermentação de amido de	56
1.3 ÁCIDOS CARBOXÍLICOS	59
1.3.1 Ácidos orgânicos na fermentação de amido de	63
1.3.2 Metodologias analíticas para a identificação e a quantificação de ácidos orgânicos	65
REFERÊNCIAS	67
 Capítulo 2 - Estudo da redução do tempo de fermentação de amido de mandioca através do monitoramento das águas sobrenadantes e das propriedades de expansão do polvilho azedo	 85
RESUMO	87
ABSTRACT	88
1 INTRODUÇÃO	89
2 MATERIAL E MÉTODOS	91
2.1 MATERIAL	91

2.2 PROCESSO FERMENTATIVO DE AMIDO DE MANDIOCA PELOS MÉTODOS TRADICIONAL E COM ADIÇÃO DE GLICOSE	92
2.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	94
2.3.1 Sólidos totais	94
2.3.2 pH e temperatura do tanque de fermentação e do ambiente	95
2.3.3 Acidez total titulável	95
2.3.4 Avaliações do polvilho azedo obtido pelo método de fermentação tradicional e com glicose	95
2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	96
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	97
4 CONCLUSÃO	109
REFERÊNCIAS	110
 Capítulo 3 - Validação de métodos para determinação de ácidos orgânicos por CLAE e EC em águas de fermentação de amido de mandioca	 117
RESUMO	119
ABSTRACT	120
1 INTRODUÇÃO	121
2 MATERIAL E MÉTODOS	123
2.1 AMOSTRAS	123
2.1.1 Preparação de amostras	123
2.2 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA	124
2.2.1 Reagentes e soluções	124

2.2.2 Sistema de cromatografia líquida	125
2.3 ELETROFORESE CAPILAR	126
2.3.1 Reagentes e soluções	126
2.3.2 Sistema de eletroforese capilar	126
2.4 AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS DE VALIDAÇÃO INTRALABORATORIAL	127
2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	129
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	129
3.1 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA	129
3.2 ELETROFORESE CAPILAR	132
3.3 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE VALIDAÇÃO INTRALABORATORIAL	134
3.4 ANÁLISE DAS ÁGUAS RESIDUAIS DA FERMENTAÇÃO DE AMIDO DE MANDIOCA	136
4. CONCLUSÃO	139
REFERÊNCIAS	139
 Capítulo 4 - Relações entre as propriedades do polvilho azedo produzido por processo fermentativo tradicional e modificado, com os ácidos orgânicos e as características físico-químicas das águas sobrenadantes da fermentação	 145
RESUMO	147
ABSTRACT	148
1 INTRODUÇÃO	149
2 MATERIAL E MÉTODOS	151

2.1 AMOSTRAS	151
2.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	151
2.2.1 Águas de fermentação	151
2.2.2 Polvilho azedo	151
2.3 DETERMINAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS	152
2.3.1 Preparo de amostras	152
2.3.2 Sistema de eletroforese capilar	152
2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	153
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	154
3.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA	154
3.2 QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS NAS ÁGUAS SOBRENADANTES DA FERMENTAÇÃO DE AMIDO DE MANDIOCA	158
3.3 QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS NAS AMOSTRAS DE POLVILHO AZEDO	163
3.4 ANÁLISE MULTIVARIADA	166
4. CONCLUSÃO	171
REFERÊNCIAS	171
 Capítulo 5 - Avaliação do processo produtivo de polvilho azedo em polvilharias de Santa Catarina	 179
RESUMO	181
ABSTRACT	182
1 INTRODUÇÃO	183
2 MATERIAL E MÉTODOS	184
2.1 AMOSTRAS	184

2.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	185
2.2.1 Águas de fermentação	185
2.2.2 Polvilho azedo	186
2.3 PROPRIEDADES DE EXPANSÃO DAS AMOSTRAS DE POLVILHO AZEDO	186
2.4 PROPRIEDADES DE PASTA	187
2.5 DETERMINAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS	187
2.5.1 Preparo de amostras	187
2.5.2 Sistema de eletroforese capilar	188
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	189
3.1 INFORMAÇÕES OBTIDAS DURANTE A COLETA DE AMOSTRAS	189
3.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA	195
3.2.1 Águas de fermentação	195
3.2.2 Polvilho azedo	198
3.3 QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS	200
3.3.1 Águas de fermentação	200
3.3.2 Polvilho azedo	202
3.4 PROPRIEDADES DE PASTA	205
3.5 PROPRIEDADES DE EXPANSÃO	208
4. CONCLUSÃO	212
REFERÊNCIAS	212
 CONCLUSÕES	 219

Anexos	221
ANEXO A - Artigo “ Standardisation of the sour cassava starch reduces the processing time by fermentation water monitoring ” publicado no “ International Journal of Food Science and Technology ” (ISSN: 1365-2621)	223
ANEXO B - Artigo “ Validation of HPLC and CE methods for determination of organic acids in sour cassava starch wastewater ” publicado no “ Food Chemistry ” (ISSN: 0308-8146)	224
ANEXO C - Trabalhos apresentados em eventos	225

INTRODUÇÃO

Muitos produtos industriais hoje bem aceitos pelos consumidores são originados de processos artesanais que foram evoluindo ao longo do tempo. A evolução das indústrias tradicionais em inovadoras requer um profundo conhecimento destes tradicionais processos industriais. No Brasil e em alguns países da América Latina, tais como Argentina, Colômbia e Equador, o amido de mandioca é naturalmente fermentado para a obtenção de um produto denominado polvilho azedo que apresenta a propriedade de expansão durante o assamento e não contém glúten, possibilitando ser empregado em formulações para produtos especiais como os destinados a celíacos.

O polvilho azedo é o amido de mandioca modificado por processo de fermentação e secagem solar, apresentando características diferentes do amido de mandioca nativo. É um produto regional e de preparo artesanal, sendo produzido principalmente por indústrias rurais de pequeno porte (MAEDA; CEREDA, 2001). No Brasil, a sua produção está localizada em microrregiões produtoras dos estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul.

A fermentação natural do amido de mandioca ocorre sem inoculação e sem suplementações nutricionais, sendo que o amido de mandioca é o único substrato empregado para esse processo, que resulta em modificações na superfície dos grânulos, com perfurações provocadas por enzimas amilolíticas (MARCON et al., 2006), além de modificações na acidez e no pH, pela ação da microbiota selvagem, e também nas propriedades reológicas do produto (DEMIATE et al., 2000). A principal diferença entre o amido fermentado e o amido nativo de mandioca reside na propriedade de expansão.

A fermentação e a secagem ao sol modificam o amido, conferindo características como alta habilidade para reter vapor e expandir durante o assamento. As modificações ocorridas durante o processo fermentativo do polvilho azedo são redução do pH, formação de ácidos orgânicos, aumento da acidez titulável, ataque de enzimas

amilolíticas, diminuição do poder de inchamento e da viscosidade, e aumento da solubilidade do amido (ASCHIERI; VILELA, 1995).

São frequentes as variações na qualidade do produto final para um mesmo produtor, partindo de matéria prima de mesma origem e, também entre diferentes produtores, isso ocorre devido à falta de controle de parâmetros no processo produtivo. Uma das formas de sobrevivência do setor é a busca pela eficiência do processo de produção do polvilho, através da melhoria do processo tecnológico, para obter um produto com melhor qualidade e padronização.

Contrariamente a tendência natural em evoluir, este amido naturalmente modificado vem perdendo mercado, devido aos substituintes, tais como amido oxidado e amido modificado por ácido, os quais não possuem todas as características sensoriais, porém, apresentam capacidade de expansão, a principal propriedade do polvilho azedo. Enquanto estes amidos modificados que substituem o polvilho azedo são considerados como os produtos evoluídos do mesmo, esta realidade representa um desestímulo às indústrias tradicionais, as quais são, em sua maioria, familiares e encontram como barreira no mercado o novo amido modificado, a menores preços do que o tradicional polvilho azedo.

Visando planejar futuras aplicações para os demais derivados da fermentação do amido de mandioca, encontrados na fase líquida, bem como a obtenção de maior homogeneidade na qualidade do polvilho azedo, existe a necessidade de continuidade dos estudos sobre este processo com ênfase nas águas da fermentação de amido de mandioca.

Alternativas para a utilização dos resíduos da indústria de mandioca são necessárias para reduzir a poluição ambiental (DAMASCENO et al., 2003) e contribuir também para a geração de lucros para os produtores. Um exemplo desta utilização seria a dos ácidos produzidos durante a fermentação do amido e que se encontram solubilizados na água sobrenadante, que não são valorizados como produtos, mas sim considerados carga orgânica poluente em um efluente industrial. Desta forma, este trabalho está dividido nos seguintes capítulos:

(a) Capítulo 1: **Revisão Bibliográfica**, abordando os principais temas envolvidos no trabalho, ou seja, amido de mandioca, amido de mandioca fermentado (processo de produção, água sobrenadante da fermentação de amido de mandioca), ácidos carboxílicos (ácidos orgânicos na fermentação de amido de mandioca, metodologias analíticas para a identificação e a quantificação de ácidos orgânicos).

(b) Capítulo 2: **Estudo da redução do tempo de fermentação de amido de mandioca através do monitoramento das águas sobrenadantes e das propriedades de expansão do polvilho azedo**, cujo objetivo foi avaliar, através da caracterização das águas sobrenadantes e das propriedades de expansão do polvilho azedo, o processo fermentativo do amido de mandioca por meio do efeito da adição de glicose em relação ao método tradicional.

(c) Capítulo 3: **Validação de métodos para determinação de ácidos orgânicos por CLAE e EC em águas de fermentação de amido de mandioca**, que objetivou avaliar e comparar as técnicas de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com fase reversa e de eletroforese capilar (EC), ambas com detecção de arranjo de diodos (DAD), para a determinação de ácidos orgânicos nas águas da fermentação do amido de mandioca, visando contribuir para aplicações futuras dessas águas ainda consideradas resíduos agroindustriais.

(d) Capítulo 4: **Relações entre as propriedades do polvilho azedo produzido por processo fermentativo tradicional e modificado, com os ácidos orgânicos e as características físico-químicas das águas sobrenadantes da fermentação de amido de mandioca**, cujo objetivo foi avaliar e correlacionar as características físico-químicas e a quantificação dos ácidos orgânicos de amostras de polvilho azedo e de suas respectivas águas sobrenadantes durante a fermentação modificada e tradicional, com e sem adição de glicose, respectivamente.

(e) Capítulo 5: **Avaliação do processo produtivo de polvilho azedo em polvilharias de Santa Catarina**, que teve como objetivo avaliar as condições do processo produtivo de polvilho azedo em polvilharias do estado de Santa Catarina, bem como caracterizar as amostras de águas de fermentação e de polvilho azedo coletadas nessas unidades visando uma futura intervenção para maior padronização, e consequente valorização, do processo como também do produto.

Os artigos publicados em revistas indexadas (Anexos A e B) e os comprovantes dos trabalhos parciais publicados em eventos científicos na área de Ciência dos Alimentos (Anexo C) estão apresentados em anexo.

CAPÍTULO 1

Revisão Bibliográfica

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 AMIDO DE MANDIOCA

A mandioca é uma das mais tradicionais culturas agrícolas brasileiras, sendo cultivada em praticamente todo o território nacional. Na Região Sul se concentram as unidades processadoras de farinha e amido (WOSIACKI; CEREDA, 2002). Nos países da América do Sul, existe a produção de amido de mandioca fermentado e seco ao sol, produto conhecido por polvilho azedo. Esse amido é capaz de gerar massas que, quando assadas, se expandem sem a necessidade de adição de fermento ou de processamento por extrusão (DEMIATE et al., 1998; DEMIATE; CEREDA, 2000).

Em relação a safra brasileira de mandioca 2012/13, o IBGE (2013) indicou um volume produzido de 21,179 milhões de toneladas, área colhida de 1,540 milhão de hectares e rendimento médio de 14,026 toneladas/ha, sendo observada uma queda de 11,4% na área e de 9,5% na produção comparada com a safra anterior. Os números pouco estimulantes da safra são o reflexo do fraco desempenho de alguns estados produtores afetados pelas condições climáticas desfavoráveis, principalmente a falta de chuva durante o ciclo vegetativo da lavoura.

As agroindústrias nacionais de farinha de mandioca, amido (fêcula) e polvilho azedo continuam processando a matéria prima, visando aumentar a produção, seja para comercialização imediata ou para a formação de estoques para venda futura. De acordo com as médias anuais (2012/13) observou-se uma valorização de 3,6% na farinha grossa e de 1,4% no polvilho azedo e uma desvalorização de 1,3% na farinha fina, de 3,1% no amido e de 10,2% na raiz (EPAGRI, 2013).

Em relação à safra catarinense de mandioca 2012/13, a mesma apresentou produção de 507 mil toneladas, área colhida de 27 mil hectares e rendimento médio de 18,9 toneladas por hectare. Em comparação com a safra anterior, a área decresceu 6,9% e a produção 4,3%, enquanto o rendimento subiu 3,6% (IBGE, 2013). Na safra, as

avaliações feitas pelas agroindústrias indicaram que para cada tonelada de mandioca foram obtidos entre 335 e 340 quilos de farinha e de 250 e 275 kg de amido e polvilho azedo, valores esses considerados bons. No período de janeiro a agosto de 2013, as vendas catarinenses de farinha, amido e polvilho azedo transcorreram dentro da expectativa dos segmentos de produção e comercialização sendo destinadas ao mercado interno, bem como aos centros consumidores interestaduais (principalmente: RS, SP, MG, RJ). O cultivo de mandioca para fins comerciais concentra-se nas regiões Sul Catarinense, Vale do Itajaí e em alguns municípios da Grande Florianópolis. Nas demais regiões catarinenses o produto é explorado principalmente para atender a alimentação animal e humana (EPAGRI, 2013).

A composição química da raiz de mandioca é de aproximadamente 50 a 70% de umidade, 15 a 30% de amido, 0,7% de proteína, 0,4% de fibra e 0,5% de cinzas (MARCON, 2004). A mandioca é rica em carboidratos, fibras, magnésio, sódio, vitaminas B, D e E, e pobre em proteínas, lipídeos, ferro e vitamina A; porém algumas variedades de cor amarela apresentam quantidade significativa de β -caroteno (WESTBY, 2002).

As raízes da mandioca podem ser consumidas de diversas formas como produtos fermentados e farinhas industrializadas ou cozidas (PADONOU; MESTRES; NAGÔ, 2005; NGEVE, 2003). Cada cultivar de mandioca tem suas peculiaridades, sendo que o teor de amido é o componente que mais sofre variações, devido à diversidade de clima, época de plantio, sistema de cultivo e momento da colheita (AMANTE, 1986).

O amido é a principal substância de reserva nas plantas superiores, sendo abundante em sementes, raízes e tubérculos. É um dos principais componentes da maioria dos vegetais, fornecendo de 70 a 80 % das calorias consumidas pelo homem (TETCHI et al., 2007).

O amido de mandioca é facilmente extraído, já que as raízes contêm pequenas quantidades de proteínas, gorduras e outros componentes. Dessa forma, o processo de extração é simples e o amido

obtido é puro e branco. O conteúdo de lipídeos no amido de mandioca é pequeno ($< 0,1\%$), com isso o amido e seus derivados não apresentam sabor e aroma de cereais, o que é desejável para muitos produtos alimentícios. Na indústria alimentícia, principalmente no setor frigorífico, é um importante substituto para o amido de milho (DEMIATE et al., 2005).

De acordo com a Instrução Normativa nº 23 de 14 de dezembro de 2005 - Normas de Classificação de Produtos Amiláceos - o amido de mandioca é a substância amilácea extraída das raízes, obtida por decantação, centrifugação ou outros processos tecnológicos adequados (BRASIL, 2005). No Brasil, o amido de raízes e tubérculos recebe a denominação de fécula, e quando extraído da mandioca e seco ao sol, sem fermentação, é conhecido como polvilho doce e utilizado como matéria prima para a produção de polvilho azedo e de inúmeros outros produtos.

O mercado de amidos vem crescendo e se aperfeiçoando nas últimas décadas, levando à busca de produtos com características específicas que atendam às exigências da indústria (LEONEL; JACKEY; CEREDA, 1998; TAKIZAWA et al., 2004). A biotecnologia tem ampliado o foco de aplicação da mandioca e seu amido (PANDEY et al., 2000).

O emprego industrial de amido se deve à sua característica única de ser usado diretamente na forma de grânulos; de grânulos intumescidos, na forma dispersa, como filme obtido da secagem de uma dispersão ou após extrusão, depois da conversão a uma mistura de oligossacarídeos (dextrinas) ou a glicose, que pode ser isomerizada enzimaticamente para frutose. Dependendo do tipo, o amido pode, entre outras funções, facilitar o processamento, servir como espessante em sopas, caldos e molhos de carne, fornecer sólidos em suspensão e atuar como agente de textura, ser ligante em embutidos de carne, estabilizante em molhos de salada, ou ainda proteger os alimentos durante o processamento (GUILBOT; MERCIER, 1985; CEREDA, 2002).

Nas raízes de mandioca o amido é a substância de reserva com teores de 20 a 30% na matéria úmida e cerca de 80 a 90% na matéria seca (VILELA; FERREIRA, 1987). O amido de mandioca tem algumas vantagens em comparação a outros tipos de amidos como, por exemplo, a facilidade de hidrólise (AYERNOR; HAMMOND; GRAFFHAM, 2002). Industrialmente, seu processamento gera uma série de produtos e subprodutos para a alimentação humana, animal ou outros usos industriais (DEMIATE; CEREDA, 2000).

As características dos grânulos refletem as propriedades dos amidos. A pasta de amido de tubérculos e raízes apresenta géis mais fracos e pouco consistentes, porém são de alta viscosidade, translúcidos, longos, coesivos, fibrosos (AMANTE, 1986; CEREDA apud FRANCO et al., 2001; WHISTLER; BEMILLER, 1997 apud FREITAS, 2004) e de baixa tendência para retrogradar pelo seu baixo conteúdo de amilose (aproximadamente 17%) e de lipídeos.

O amido apresenta características físicas e químicas e qualidade nutricional superiores quando comparado com outros carboidratos (WHISTLER; BEMILLER, 1997). Suas características físico-químicas e funcionais estão relacionadas às características estruturais do grânulo as quais dependem da fonte botânica, do local e das condições de crescimento, entre outras (HERMANSSON; SVEGMARK, 1996; SLATTERY; KAVAKLI; OKITA, 2000).

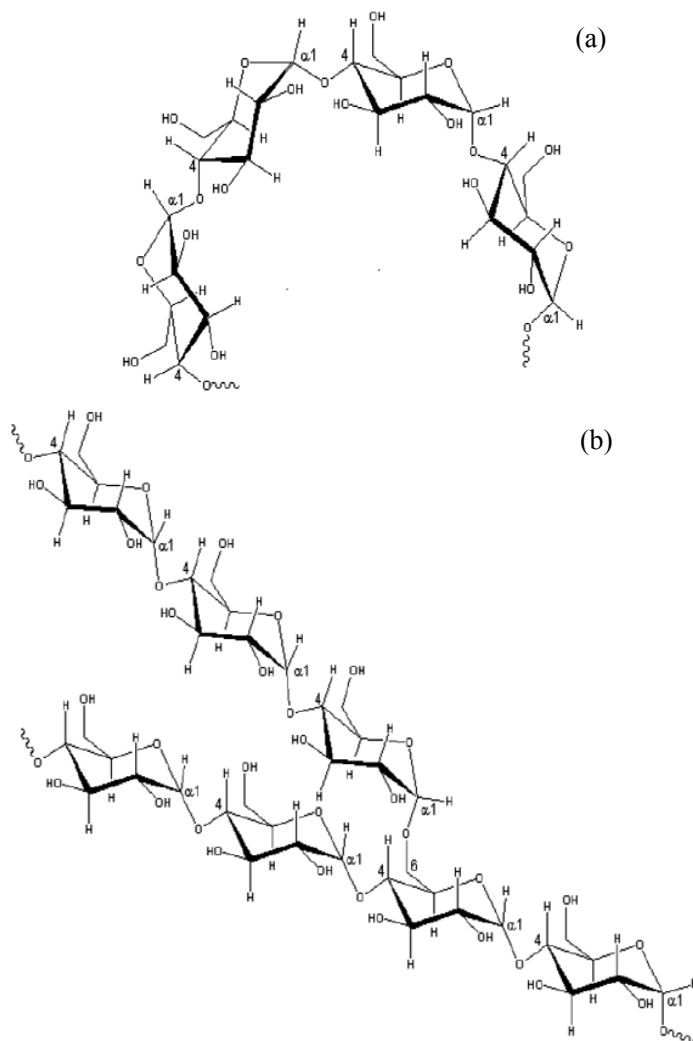
Os grânulos de amido são formados por dois polímeros: a amilose e a amilopectina. A funcionalidade dos amidos está diretamente relacionada a essas duas macromoléculas e também à organização física das mesmas, dentro da estrutura granular (BILIADERIS, 1991). A amilose e a amilopectina se apresentam em proporções relativamente constantes de 20:80, porém podem apresentar quantidades relativas de 2% de amilose em amidos cerosos e até cerca de 80% de amilose no milho (BULÉON et al., 1998).

A amilose (Figura 1a) é uma molécula linear, embora alguns autores discordem estando estabelecido que ela possui poucas ramificações (0,3 a 0,5% do total das ligações), de cadeia longa,

contendo 200 ou mais unidades de α -D-glicose unidas por ligações α (1-4). Possui a tendência de formar hélice e girar, mesmo através de várias camadas de amilopectina. A amilopectina (Figura 1b) é basicamente uma molécula altamente ramificada, de cadeias curtas, possuindo cerca de 1000 unidades de α -D-glicose unidas por ligações α (1-4) e com 5 a 6% de ligações α (1-6), nas ramificações (CHEFTEL; CHEFTEL, 1976; AMANTE, 1986; WHISTLER; BEMILER, 1997; BULÉON et al., 1998; FENNEMA, 2000; FRANCO et al., 2001; SOARES, 2003). As ramificações da amilopectina possuem dupla hélice e o comprimento das cadeias varia com a origem do amido e a espécie, porém é comum apresentarem entre 20 e 30 unidades de glicose (BELITZ; GROSCH, 1997; FRANCO et al., 2001; MOORE, 2001; SOARES, 2003).

A unidade de glicose terminal da cadeia polimérica tem um grupo aldeído latente ($-\text{HOCH}_2$), e este é conhecido como grupo redutor ou extremidade redutora do amido (ZANIN, 1989). As diferenças entre as moléculas de amilose e amilopectina podem ser evidenciadas através da massa molar, grau de polimerização e outras propriedades físico-químicas.

Segundo Hosene (1996), a natureza linear e de grande comprimento das cadeias de amilose confere a mesma propriedades singulares como capacidade de complexar com o iodo, formando um complexo de cor azul, com álcoois ou ácidos orgânicos; formação de precipitado em solução de amido com a adição de NaOH ou DMSO (dimetilsulfóxido) e também a associar-se consigo mesma e precipitar na solução.

Figura 1 - Estrutura química da (a) amilose e da (b) amilopectina.

Fonte: Adaptado de Lajolo e Menezes (2005).

O amido de mandioca é muito utilizado na indústria de alimentos, no entanto apresenta certas limitações que dificultam sua utilização, na forma nativa, em determinados produtos. Destacando a

insolubilidade em água fria, baixa estabilidade frente a ciclos de congelamento e descongelamento e tendência a retrogradação. Para ampliar a sua aplicação o amido nativo sofre modificações que alteram algumas dessas características. Para atender essa demanda de características específicas de novos produtos alimentícios, amidos de diferentes fontes são submetidos a modificações pelas vias: a) química (oxidação, fosfatação), b) física (extrusão), c) enzimática e d) combinação de diferentes vias, tendo suas propriedades nativas tecnologicamente melhoradas (CEREDA; VILPOUX; DEMIATE, 2003).

Como exemplos de amidos modificados, temos: o polvilho azedo, amido pré-gelatinizado, modificado por ácidos (*thin-boiling*), fosfatado, oxidado por hipoclorito de sódio, amido intercruzado ou com ligação cruzada (*cross-linked*), dextrinas e/ou maltodextrinas.

Os amidos hidrolisados por enzimas são os mais importantes amidos modificados comerciais, incluem desde dextrinas até monossacarídeos. A hidrólise se dá pelo desdobramento total das moléculas de amilose e amilopectina, que ao se romperem se transformam em dextrinas cada vez mais simples e, finalmente, em glicose. O amido não tem sabor pronunciado, mas os produtos de uma hidrólise intensa apresentam gosto adocicado (FRANCO et al., 2001).

Os produtos resultantes da hidrólise são a glicose, maltose, e uma série de oligossacarídeos e polissacarídeos. Essa ampla faixa de hidrolisados, produzidos a partir de diferentes graus de hidrólise, é classificada em valores de “dextrose equivalente” (DE), a qual mede a quantidade de açúcar redutor presente no produto e é expresso em peso seco (CHRONAKIS, 1998).

O polvilho azedo se tornou uma alternativa de baixo custo à produção de amidos modificados, visto a necessidade de diversificação da produção das feculárias. Diante da crise das empresas de farinha, muitas indústrias realizaram a conversão da planta de processamento para produção de polvilho. Essa solução teve a vantagem de aproveitar parte da estrutura da farinheira e de não exigir investimentos muito

elevados o que impulsionou o interesse de empresários para a produção de polvilho azedo (MAEDA; CEREDA, 2001).

1.2 AMIDO DE MANDIOCA FERMENTADO (POLVILHO AZEDO)

O desenvolvimento de novos produtos e ingredientes em panificação tem sido intensificado nos últimos anos. O amido fermentado de mandioca e seco ao sol, comumente chamado de polvilho azedo, apresenta a propriedade de expansão durante o cozimento ao forno e não contém glúten, possibilitando ser empregado em formulações para produtos especiais como os destinados a portadores da doença celíaca. É um alimento que tem sido estudado sob vários aspectos, principalmente o mecanismo de desenvolvimento da propriedade de expansão e a interferência de seus constituintes neste fenômeno, conhecimento que pode ser aplicado em outros tipos de amidos e farinhas, como os provenientes de cereais e de outras tuberosas (PEREIRA et al., 1999).

Segundo Peroni (2003) e Ao e Jane (2007), as características e as propriedades físico-químicas do amido de mandioca são dependentes da espécie e/ou da variedade de origem das raízes de mandioca. Diferenças estruturais e no comportamento reológico e físico químico de amidos de diferentes fontes botânicas são amplamente citadas. Charles et al. (2005) analisaram e observaram entre o amido de cinco cultivares de mandioca, diferenças no tamanho dos grânulos de amido, os quais variaram entre 12,9 e 17,2 μm , e nas temperaturas de gelatinização.

A Resolução CNNPA nº 12 de 1978 (BRASIL, 1978) que fixava os padrões de identidade e qualidade de amidos e féculas foi revogada, entrando em vigor a Resolução nº 263 de setembro de 2005 (BRASIL, 2005), que regulamenta os produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos e fixa o padrão de umidade para a fécula de mandioca de 18%. A Resolução CNNPA nº 12 de 1978 era mais detalhada em relação às características de qualidade dos amidos, como de não

poderem estar úmidos, fermentados ou rançosos, serem fabricados a partir de matérias primas sãs, limpas e isentas de matéria terrosa e de parasitos, o polvilho azedo deveria apresentar umidade máxima de 14%, máximo de 5 mL de NaOH 1 mol L⁻¹/100g de acidez, mínimo de 80% de amido e o resíduo mineral em quantidade máxima de 0,5%.

No entanto, na legislação atual não existe uma classificação para o polvilho azedo. Nunes e Cereda (1994) estabeleceram uma proposta de classificação baseando-se na expansão do polvilho azedo ao forno em pequena ($\leq 5 \text{ mL g}^{-1}$), média (de 5 a 10 mL g⁻¹) e grande ($\geq 10 \text{ mL g}^{-1}$).

A produção de polvilho azedo é realizada principalmente por pequenas e médias empresas que usam um processo empírico de fermentação e secagem natural, sem controle dos processos e dependente das condições climáticas, gerando um produto desuniforme, com contaminação e muitas vezes com problemas nas características tecnológicas (CIACCO; CRUZ, 1982; WESTBY; CEREDA, 1994; CEREDA; NUNES; VILPOX, 1995). Segundo Cereda (1987), durante a fermentação do amido de mandioca desenvolve-se uma variada microbiota, responsável pela produção de enzimas amilolíticas e de ácidos orgânicos que podem ser responsáveis pelas propriedades funcionais do polvilho azedo.

O polvilho azedo apresenta um sabor típico, com características diferentes do amido nativo de mandioca, e é usado na produção de biscoitos salgados e de pães de queijo (CÁRDENAS; BUCKLE, 1980; CEREDA, 1983; WETSBY; CEREDA, 1994; CAMARGO et al., 1998; PLATA-OVIEDO; CAMARGO, 1998; DEMIATE et al., 2000; APLEVICZ; DEMIATE, 2007; MARCON et al., 2007), produtos de grande aceitação sensorial no Brasil.

Quando o amido de mandioca passa por um processo fermentativo, variável em condições como tempo ou local, seja ainda pela ação de enzimas microbianas, ácidos orgânicos produzidos por micro-organismos ou ação combinada de ambos, passa a ser chamado de

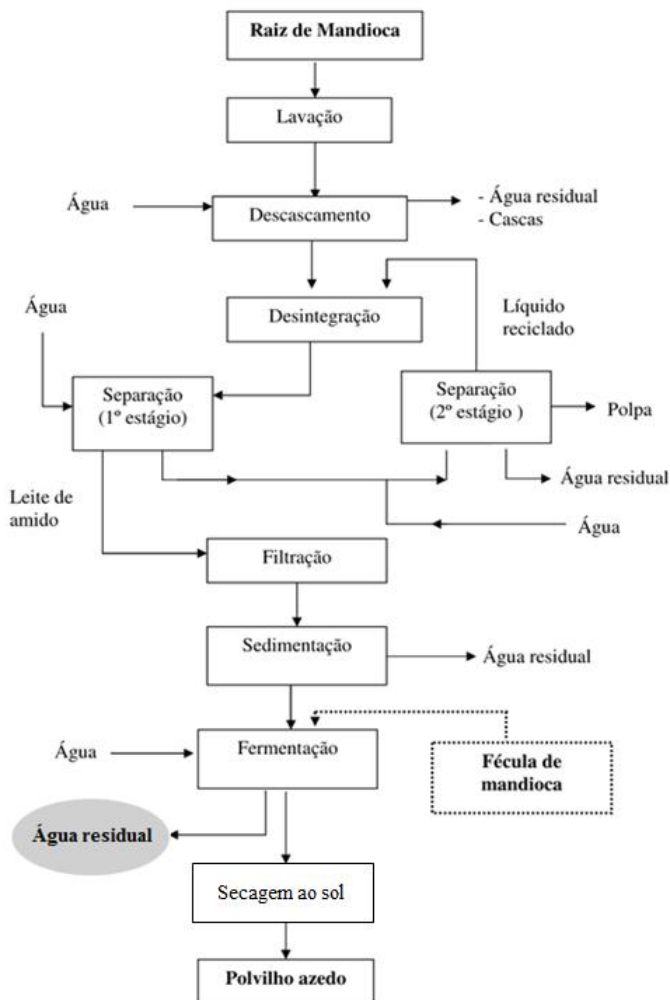
amido fermentado ou no caso da mandioca, de polvilho azedo (CEREDA, 1983).

1.2.1 Processo de produção

Em linhas gerais, o fluxograma de obtenção do polvilho azedo (Figura 2) consiste em: recebimento das raízes, lavagem e descascamento, ralação, extração onde o “leite de amido” (suspensão de amido em água, conforme denominado pelas empresas) é separado do bagaço por peneiras planas vibratórias ou cônicas rotativas, sob água corrente. O bagaço (polpa) acumulado é eliminado e, o amido é arrastado pela água onde será separado por decantação em tanques de alvenaria ou chicanas (labirintos) revestidos de cerâmica ou com divisórias de madeira. Em empresas de médio e grande porte, os tanques de decantação são substituídos por centrífugas, e por filtros rotativos a vácuo. O amido obtido é transferido para tanques de fermentação que podem ser desde cochos de madeira a tanques de alvenaria, revestidos ou não com cerâmica, cobertos ou descobertos (MARCON, 2009).

O amido deve permanecer nos tanques de fermentação sob uma camada de água em torno de 5 a 20 cm e por um intervalo de tempo que varia de acordo com as condições climáticas, de 20 até 60 dias. O processo é considerado terminado, empiricamente, com o aparecimento de espuma na superfície e bolhas persistentes que se formam no interior da massa e desprendimento de forte odor característico. A secagem é feita ao sol, colocando a massa sobre jiraus de bambu. O período de secagem varia de acordo com as condições climáticas (DEMIATE et al., 2000; AVANCINI, 2007).

As condições em que se desenvolve a fermentação do amido de mandioca para produção de polvilho azedo são muito especiais como: substrato formado exclusivamente por amido nativo, fonte de carbono para os micro-organismos; meio quase sólido formado pela decantação do polvilho no tanque e, conseqüentemente, condições anaeróbias no meio, que se estabelecem nos primeiros cinco dias (DINIZ, 2006).

Figura 2 - Fluxograma do processo de produção de polvilho azedo.

..... Rota alternativa durante a entressafra da mandioca.

Fonte: Avancini (2007) com modificações.

A fermentação natural do amido de mandioca ocorre sem inoculação e sem suplementações nutricionais, sendo que o amido é o

único substrato empregado para esse processo tendo como produto final o polvilho azedo (CAVALLET et al., 2006). Estudos mostram que a fermentação natural que origina o polvilho azedo ocorre, principalmente, devido à ação de bactérias ácido-láticas. A natureza do processo fermentativo, utilizado comercialmente, é ainda pouco conhecida e caracteriza-se por ser um processo rudimentar e empírico, em que a maioria dos produtores não utiliza inóculo para garantir ou acelerar a fermentação.

Essa fermentação resulta modificações na superfície dos grânulos, com perfurações provocadas por enzimas amilolíticas (MARCON et al., 2006), além de modificações na acidez, no pH e nas propriedades reológicas do produto (DEMIATE et al., 2000). A principal diferença entre o amido fermentado e o amido nativo de mandioca, reside na propriedade de expansão, a qual vem sendo apreciada de modo crescente pela indústria de panificação, em especial para o preparo de massas para consumidores celíacos, pois o polvilho azedo é livre de glúten (MARCON, 2009). Ainda, segundo Aplevicz e Demiate (2007), as principais características que diferem o polvilho azedo do amido nativo de mandioca são: acidez, taxa de expansão, viscosidade, claridade de pasta, sinerese e poder redutor (APLEVICZ; DEMIATE, 2007).

Avancini (2007), citado por Reginatto et al. (2009), atenta que apesar da sua importância, o polvilho azedo, ainda é obtido de maneira empírica, com uma fermentação prolongada e quase sem nenhum controle. A fermentação é do tipo submersa, normalmente com uma lâmina de 20 cm de água sobre a mistura amido e água, e varia conforme a região produtora. Ao término do processo, essas águas são descartadas no ambiente, sem tratamento.

A fermentação do amido de mandioca para produção de polvilho azedo é tradicionalmente realizada a partir da microbiota natural presente no amido de mandioca. Esta microbiota é constituída principalmente por bastonetes gram-positivos, identificados como bactérias láticas, homo e heterofermentativas com predominância do

Lactobacillus plantarum (CÁRDENAS; BUCKLE, 1980; CARVALHO et al., 1996; SILVEIRA et al., 2000).

A 1ª fase da fermentação do amido de mandioca, na produção do polvilho azedo, é marcada por uma microbiota pouco exigente, entre eles os gêneros *Escherichia* sp., *Alcaligenes* sp., *Micrococcus* sp. e *Pseudomonas* sp.. Também foi detectado um micro-organismo capaz de produzir enzima amilolítica, iniciando a hidrólise do amido nativo e fornecendo carbono às bactérias da 2ª fase (CEREDA, 1987; SILVEIRA et al., 2000). Esse início da fermentação é marcado pela rápida queda na concentração de oxigênio dissolvido, que é consumido por bactérias amilolíticas aeróbias, transformando-o em CO₂ e H₂, além de ácidos orgânicos, como o ácido acético, butírico, láctico, propiônico e outros.

Quanto à fonte de nitrogênio, Cavallet et al. (2006) investigaram a hipótese da presença de fixação biológica de N₂ atmosférico na fase inicial do processo fermentativo do amido de mandioca, tendo como indicador a determinação dos valores totais de N na suspensão água/amido. Os autores verificaram que não houve aumento de nitrogênio total durante a fase inicial do processo de fermentação de amido de mandioca, assim sendo não ocorreu o processo de fixação biológica de N₂ atmosférico. Dessa forma, a origem do nitrogênio para o processo fermentativo foi o próprio amido que, na forma de polvilho, apresenta alta relação C/N, porém, quando em suspensão aquosa no meio fermentativo, essa relação baixou consideravelmente propiciando uma fermentação vigorosa e rápida. Dessa forma, pode-se excluir a hipótese da ocorrência de fixação biológica de N₂ atmosférico, uma vez que não houve necessidade de considerar a entrada do elemento nitrogênio no sistema. A pequena quantidade de nitrogênio presente nos grânulos de amido, juntamente com a pouca quantidade de carbono dos açúcares redutores foram para a fase líquida, propiciando no final uma baixa relação C/N no meio fermentativo, o que favoreceu uma fermentação vigorosa e rápida em apenas 24 horas.

O aspecto alterado da superfície dos grânulos de amido de mandioca após a fermentação, com perfurações e rachaduras, comprova o efeito do ataque das amilases (MARCON, 2004; MARCON et al., 2006). A 2ª fase propicia o desenvolvimento de micro-organismos microaerófilos, anaeróbios facultativos ou estritos responsáveis pelas fermentações lácticas, acéticas, butíricas e propiônicas, entre outras. Em regiões frias, a fermentação é lenta com predomínio da microbiota láctica com uma maior frequência do *Lactobacillus plantarum*, enquanto nas regiões quentes, a fermentação é mais rápida e predomina a microbiota butírica, sendo o *Clostridium butyricum* com maior relevância (SILVEIRA et al., 2003, LACERDA et al., 2005).

Na 3ª fase ainda aparecem os micro-organismos saprófitas e contaminantes, entre os quais diversas espécies de leveduras que seriam responsáveis pela formação dos compostos aromáticos (CEREDA, 1987; CEREDA; NUNES; VILPOUX, 1995; SILVEIRA et al., 2000).

Foi estabelecida, por Cereda e Lima (1981), uma técnica de fermentação em laboratório que permitiu acompanhar o processo através de determinações de parâmetros como pH, acidez titulável, açúcares, ácidos orgânicos, além da contagem, isolamento e identificação da microbiota ocorrente. É difícil explicar uma fermentação tão rica a partir de um meio de cultivo tão pobre. No processo de purificação do amido, são perdidos os sólidos solúveis de constituição da raiz que contêm os compostos nitrogenados e vitaminas. O substrato fica restrito a uma suspensão de amido nativo em água, entretanto, Cereda (1973) identificou uma abundante microbiota no material em fermentação. Esses agentes podem ter origem na própria matéria prima, nos tanques que não são lavados após a descarga e no próprio meio ambiente. Ensaio realizados em condições estéreis (CEREDA; LIMA, 1981), comprovaram que o amido seco contém micro-organismos suficientes para ser usado como inóculo.

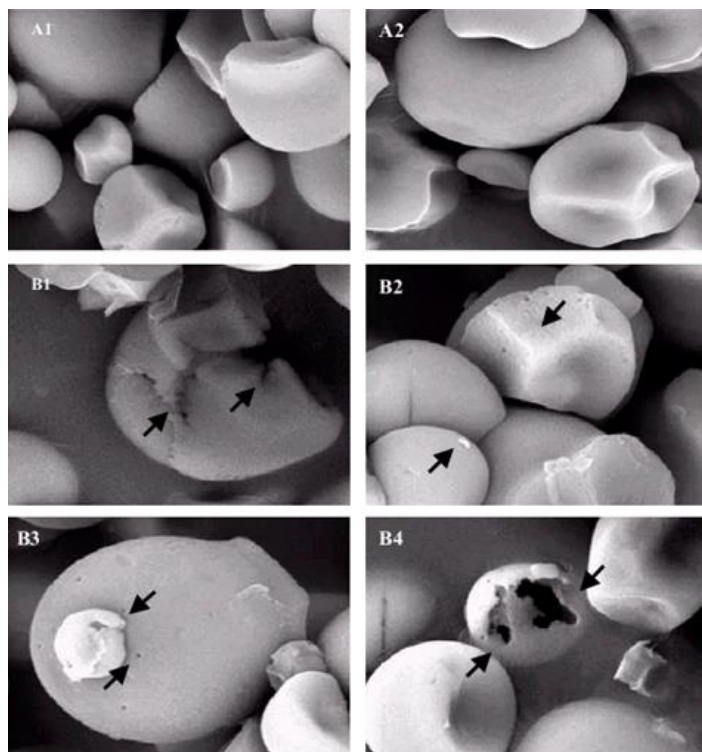
Marcon (2004) relatou que a adição de xarope de glicose no processo fermentativo do amido de mandioca pode reduzir significativamente o tempo de fermentação, o que constitui uma

alternativa importante para as polvilharias. A partir desse trabalho, as polvilharias dispõem de um processo rápido para a fermentação do polvilho azedo. Por outro lado, o final da fermentação apresenta parâmetros específicos que podem ser acompanhados, permitindo aumentar a eficiência no processo de produção do polvilho azedo.

Sabe-se que as primeiras etapas da fermentação do polvilho azedo são caracterizadas pela geração de açúcares, a partir da ação de enzimas amilolíticas microbianas. Assim, a adição de glicose subentende a oportunidade de transpor etapas no processo, disponibilizando substratos em maior concentração para a etapa de fermentação, promovida por bactérias ácido lácticas, predominantes no processo de produção do polvilho azedo. Enzimas e ácidos gerados nas diferentes etapas da fermentação do polvilho azedo promovem importantes danos aos grânulos de amido, como foi observado por Marcon (2004) em seu trabalho (Figura 3).

Marcon et al. (2006) avaliaram o efeito da fermentação, com e sem adição de glicose em diferentes concentrações, na microestrutura do amido de mandioca de diferentes origens. Os autores observaram que a adição de glicose reduziu o tempo de fermentação em 50% e que a origem do amido e a taxa de fermentação influenciaram na sua microestrutura.

Figura 3 - Micrografia de microscopia eletrônica de varredura (2000x) de grânulos de amido nativo e fermentado (polvilho azedo) de mandioca. A1 e A2: amido nativo industrial; B1, B2, B3 e B4: polvilho azedo.



Fonte: Marcon (2004).

Apesar da importância do polvilho azedo, o seu processo produtivo ocorre sem registro de mudanças ou modernizações (MARCON, 2004). Não existe, portanto, um padrão de qualidade para o produto. Uma das formas de sobrevivência do setor diante do cenário global é a busca pela eficiência do processo de produção do polvilho, através da melhoria do processo tecnológico, para obter um produto de atributos especiais com qualidade e padronização. São frequentes as

variações na qualidade do produto final para um mesmo produtor, partindo de matéria prima com mesma origem e, entre produtores (CEREDA, 1987).

Mesmo com muitos trabalhos de pesquisa agropecuária, não ocorre seleção de raízes, controle da qualidade da água do processamento, pH, temperatura ou de qualquer outro parâmetro de qualidade. A fermentação ocorre ao acaso, o que representa incerteza para processadores e consumidores (MARCON, 2004). A confiança na contaminação natural dos alimentos fermentados espontaneamente pode resultar em um produto de qualidade inconsistente, de higiene duvidosa e sem padronização (KIMARYO et al., 2000).

Vários trabalhos mostraram que o processo de fermentação altera o grânulo de amido, dando ao polvilho azedo suas características peculiares, tais como o seu odor e sabor únicos, além das modificações reológicas (CARVALHO et al., 1996; PEREIRA et al., 1999; MAEDA; CEREDA, 2001; GUYOT; MORLON-GUYOT, 2001, MARCON et al., 2006). Acredita-se que a fermentação e os processos de secagem ao sol não só podem alterar a reologia do amido, mas também aumentar a capacidade de expansão e a sua viscosidade.

Após a fermentação predominantemente láctica, o polvilho azedo é seco ao sol, por um período que varia de acordo com o clima. A fermentação do amido é encerrada empiricamente com a formação de espuma na superfície da água e o desprendimento de bolhas de gás do interior da massa. Outros ácidos orgânicos, além do láctico, estão presentes em concentrações diversas entre eles, o acético, o butírico e o propiônico (CEREDA; LIMA, 1981; CEREDA, 1987; DEMIATE et al., 1999).

Mestres e Rouau (1997) avaliaram a influência da fermentação natural e das condições de secagem nas características físico-químicas de amostras de polvilho azedo de uma planta piloto na Colômbia. Eles observaram que 30% do ácido láctico sintetizado durante a etapa de fermentação não foi recuperado após a secagem ao sol enquanto que na secagem em estufa a concentração desse ácido se manteve. Ou seja,

quase um terço do ácido láctico sintetizado durante a fermentação é transformado durante a secagem ao sol para um produto ainda não identificado. Não é nem adsorvido nem esterificado ao amido e não parece ser polimerizado. Estes resultados sugerem a ocorrência de uma modificação oxidativa das moléculas de amido, como a despolimerização, devido à ação conjunta da fermentação e da secagem ao sol.

Existe ainda a necessidade de desenvolvimento de tecnologia e de métodos analíticos para que o processo fermentativo ocorra de forma controlada. A fermentação natural do amido de mandioca produz um resíduo líquido ainda muito pouco estudado, lançado diretamente no ambiente contribuindo para aumentar o risco de impactos ambientais, devido, principalmente, ao baixo aporte tecnológico empregado e à tendência das pequenas indústrias se agruparem em uma mesma região produtora (LACERDA et al., 2005).

1.2.2 Água sobrenadante da fermentação de amido de mandioca

A água da fermentação do amido de mandioca constitui um líquido transparente, com aparência similar à água de coco. Os sólidos solúveis e em suspensão presentes neste resíduo agroindustrial são provenientes do processo de fermentação do amido, hidrólise enzimática e utilização dos produtos de hidrólise (BIAZOTTO, 2008).

As águas resultantes da fermentação do amido, descartadas ao final do processo, são ainda pouco estudadas (Tabela 1). É interessante ressaltar que os efluentes da fermentação do amido de mandioca diferem das águas residuais geradas no processo de fabricação de farinha pela prensagem da massa ralada da mandioca, comumente denominadas de manipueira (AVANCINI et al., 2007).

O processo fermentativo do amido de mandioca pode ocorrer com um baixo nível ou com excesso de água, essa última é uma prática comum nas indústrias de polvilho azedo do Brasil e da Colômbia (CÁRDENAS; BUCKLE, 1980), mas algumas indústrias fazem uso da

água apenas para iniciar o processo, o que pode comprometer a qualidade do produto fermentado resultando em uma distribuição heterogênea dos micro-organismos envolvidos no processo (AVANCINI, 2007).

Considerando a produção do polvilho azedo em regiões específicas, com uma grande concentração de pequenas unidades industriais na Argentina, Colômbia, Equador, Paraguai e Brasil, o uso destas águas residuais poderia ser estudado para novas aplicações e oportunidades para aumentar a renda de pequenas empresas. Pequenas indústrias poderiam fornecer as águas residuais como matéria prima para novas unidades com tecnologias adequadas para a exploração dos ácidos orgânicos (AVANCINI, 2007).

A partir dos resultados do trabalho de Avancini et al. (2007), ficou comprovado que as águas da fermentação do amido de mandioca podem ser seguras como matéria prima para a elaboração de novos produtos, no entanto não foram encontrados na literatura trabalhos sobre as características dos sólidos solúveis e suspensos destes subprodutos que são tratados como efluentes industriais.

Comparativamente com a manipueira, as águas da fermentação representam um volume expressivamente menor, mas podem ter uma composição extremamente interessante para ser reaproveitada na elaboração de produtos (AVANCINI et al., 2007; BIAZOTTO, 2008), bem como a sua caracterização pode representar uma ferramenta para a melhor compreensão das alterações que ocorrem no amido de mandioca durante o processo de produção de polvilho azedo.

Tabela 1 - Trabalhos realizados com as águas de fermentação de amido de mandioca e suas respectivas conclusões.

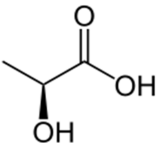
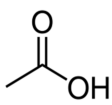
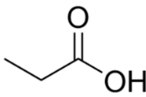
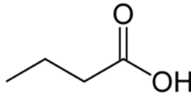
Autor (Ano)	Título do trabalho	Análises realizadas	Conclusões
Avancini (2007)	Caracterização química, microbiológica e toxicológica da água da fermentação do amido de mandioca.	<ul style="list-style-type: none"> ● teste de toxicidade, sólidos totais, cinzas, N total, acidez (em ácido láctico), pH, BAL, bactérias mesófilas, bolores e leveduras 	<ul style="list-style-type: none"> ● baixa toxicidade aguda em camundongos (>5,0 g/kg de peso). ● a ingestão da água de fermentação por 28 dias em concentrações de 0,25%, 50% e 100% não causou alterações clínicas e hematológicas significativas nos animais.
Biazotto (2008)	Utilização das águas da fermentação do polvilho azedo na elaboração de uma nova bebida.	<ul style="list-style-type: none"> ● acidez, pH, sólidos totais, bolores e leveduras, mesófilos totais, presença de álcool - da água durante a fermentação ● composição centesimal, análises microbiológicas e análise sensorial das bebidas 	<ul style="list-style-type: none"> ● a bebida obteve aceitação sensorial, com escore superior a 6, na faixa entre gostei ligeiramente e gostei moderadamente.
Reginatto et al. (2009)	Modificação do processo de produção de polvilho visando o aumento na concentração de ácidos orgânicos na água residuária.	<ul style="list-style-type: none"> ● pH, acidez, ácidos orgânicos 	<ul style="list-style-type: none"> ● a adição de N promoveu o aumento da concentração de ácidos orgânicos. ● a adição de NH_4Cl 0,1% (p/v) propiciou um incremento em torno de 50% na produção de ácidos orgânicos na água sem alterar a característica de expansão do polvilho azedo.

1.3 ÁCIDOS CARBOXÍLICOS

Os ácidos carboxílicos, caracterizados pela presença do grupo funcional carboxila ($-\text{COOH}$) representam o maior grupo entre os ácidos orgânicos (SNYDER, 1995). A presença do grupo COOH confere aos ácidos carboxílicos, entre outras propriedades, a de serem ácidos fracos em meio aquoso e de apresentarem elevados pontos de ebulição devido à facilidade com que formam interações intermoleculares do tipo ligações de hidrogênio (SOLOMONS, 1996; HARRIS, 1999).

Na indústria de alimentos os ácidos orgânicos são amplamente usados como aditivos. Como agentes de processamento são adicionados para controlar a alcalinidade de muitos produtos podendo agir como tampões ou simplesmente como agentes neutralizantes, já como conservador, podem atuar desde agentes antimicrobianos até antioxidantes. Na Tabela 2 são apresentadas algumas propriedades dos ácidos orgânicos de interesse no presente estudo.

Tabela 2 - Propriedades gerais e estruturas moleculares dos ácidos orgânicos analisados nas águas de fermentação de amido de mandioca.

Substância	Estrutura molecular	Propriedades
Ácido láctico (ácido 2-hidroxipropanóico)		Fórmula molecular: $C_3H_6O_3$ Massa molar: $90,08 \text{ g mol}^{-1}$ Ponto de ebulição: $122 \text{ }^\circ\text{C}$ pKa: 3,85 (a $25 \text{ }^\circ\text{C}$)
Ácido acético (ácido etanoico)		Fórmula molecular: $C_2H_4O_2$ Massa molar: $60,04 \text{ g mol}^{-1}$ Ponto de ebulição: $118,1 \text{ }^\circ\text{C}$ pKa: 4,75 (a $25 \text{ }^\circ\text{C}$)
Ácido propiônico (ácido propanoico)		Fórmula molecular: $C_3H_6O_2$ Massa molar: $74,08 \text{ g mol}^{-1}$ Ponto de ebulição: $141 \text{ }^\circ\text{C}$ pKa: 4,87 (a $25 \text{ }^\circ\text{C}$)
Ácido butírico (ácido butanoico)		Fórmula molecular: $C_4H_8O_2$ Massa molar: $88,11 \text{ g mol}^{-1}$ Ponto de ebulição: $163 \text{ }^\circ\text{C}$ pKa: 4,82 (a $25 \text{ }^\circ\text{C}$)

Fonte: CRC Handbook of Chemistry and Physics (2014-2015)

O ácido láctico (ácido 2-hidroxipropanóico, de acordo com a IUPAC) é um ácido orgânico de ocorrência natural, não volátil, sem odor e de sabor suave, com valor agregado e versátil considerando-se inúmeras aplicações na indústria alimentícia (representa cerca de 85%

da demanda), farmacêutica, química, têxtil e do couro (DATTA; HENRY, 2006; JOHN; NAMPOOTHIRI; PANDEY, 2007; JOHN et al., 2009). Podendo ser obtido por fermentação ou síntese química, o ácido láctico tem uma história antiga de uso como acidulante e aromatizante na produção de diversos alimentos (CHOTANI et al., 2000), e como intermediário na síntese de derivados empregados pelas indústrias alimentícia e farmacêutica (LIU, 2003).

Pelo fato do ácido láctico possuir dois grupos funcionais reativos, carboxila (-COOH) e hidroxila (-OH), pode ser convertido em diferentes insumos químicos, como os ácidos acrílico e pirúvico, 1,2-propanodiol, 2,3-pentadiona, acetaldeído, etc. (VARADARAJAN; MILLER, 1999). Recentemente, o consumo desse ácido se expandiu consideravelmente em função da aplicabilidade na indústria de polímeros, como monômero para a produção do poli(ácido láctico), comumente conhecido como PLA (ILMÉN et al., 2007). Estima-se que o consumo global do ácido láctico é de aproximadamente 130.000 a 150.000 toneladas anuais (WEE; KIM; RYU, 2006).

Em decorrência da sua estrutura química, o ácido láctico apresenta dois isômeros ópticos: D- e L- ácido láctico. Quanto às duas rotas de produção desse ácido (química e fermentativa), a síntese química fundamenta-se na hidrólise da lactonitrila, um derivado petroquímico, com ácidos fortes, resultando em uma mistura racêmica de DL-ácido láctico (DATTA et al., 1995; NARAYANAN; ROYCHOUDHURY; SRIVASTAVA, 2004; WEE; KIM; RYU, 2006). Todavia, sob o ponto de vista nutricional, o D-ácido láctico é indesejável, uma vez que esta forma isomérica não é metabolizada facilmente pelo organismo humano. A rota fermentativa, responsável por cerca de 90% da produção mundial, converge à produção de isômeros L- ou D-ópticamente puros, uma vez que a pureza óptica do ácido láctico é importante para a síntese do PLA altamente cristalino (HOFVENDAHL; HAHN-HÄGERDAL, 2000; SÖDERGÅRD; STOLT, 2002; KARP et al., 2011). Outro benefício desta técnica é o fato da fermentação requerer baixo consumo energético, sendo

conduzida a temperaturas mais brandas (PANDEY et al., 2001; ILMÉN et al., 2007).

O ácido acético é o principal ingrediente do vinagre. Seu nome deriva do latim *acetum*, que significa azedo. Conhecido e usado há tempos pela humanidade, é usado como condimento e conservador de alimentos. A oxidação aeróbia, por bactérias do gênero *Acetobacter*, do álcool a ácido acético diluído (8%) é um processo antigo, que produz o vinagre, uma solução de ácido acético aromatizada, obtida pela fermentação do vinho, da cidra, do malte ou do álcool diluído (SHREVE; BRINK, 1980). Como agente antimicrobiano, a sua atividade aumenta à medida que o pH diminui, uma propriedade análoga a encontrada em outros ácidos graxos alifáticos (LINDSAY, 2010).

Quanto ao ácido propiônico, as bactérias produtoras deste, em geral, podem ser caracterizadas como gram-positivas, catalase positivas, não esporuladas, imóveis, e aeróbicas facultativas. Alguns exemplos são: *Propionibacterium freudenreichii*, *P. jensenii*, *P. peterssonii*, *P. shermanii*, *P. pentosaceum*, *P. rubrum*, *P. technicum*, *P. thoenii*, *P. raffinosaceum*, *P. arabinosum* e *P. zeae*. Elas podem ser isoladas de fontes como leite, queijo, solo, silagem, e excreta de gado (PRESCOTT et al., 1959). *Micrococcus lactilycus* (*Veillonella gazogenes*) e *Clostridium propionicum* também fazem esse tipo de fermentação (CROCOMO, 1967). As bactérias que produzem ácido propiônico podem fermentar um grande número de carboidratos, polióis e ácidos orgânicos, como pentose, 2-cetogluconato, lactato, piruvato, glucose, galactose, lactose, maltose, malato, sorbitol, manitol, glicerol, entre outros.

O ácido propiônico é o responsável pelo cheiro característico do queijo suíço (SNYDER, 1995). Durante o período principal de maturação deste tipo de queijo, *Propionibacterium shermanii* e micro-organismos similares, convertem ácido láctico e lactatos aos ácidos propiônico e acético e a dióxido de carbono. Esse ácido tem tido uso extensivo no campo da panificação, não apenas pela inibição efetiva de bolores, mas também pela atividade contra o *Bacillus mesentericus*, que

causa viscosidade no pão. Como outros ácidos carboxílicos antimicrobianos, a forma não dissociada desse ácido é ativa, sendo que o intervalo de efetividade se estende até pH 5,0, em muitas aplicações. A toxicidade do ácido propiônico contra bolores e algumas bactérias está relacionada à capacidade dos organismos afetados de metabolizar esqueletos de três carbonos (LINDSAY, 2010).

A fermentação butírica é realizada por bactérias anaeróbias com a produção de ácido butírico e gás a partir da lactose ou do ácido láctico e é característica das bactérias do gênero *Clostridium*. Seu nome deriva do latim *butyrum* que significa manteiga, pois fornece um odor peculiar à rancidez desse produto e ainda é usado na síntese de aromas, em fármacos e em agentes emulsificantes (PARKER, 1997). O ácido butírico tem muitas aplicações na indústria química, assim como os nas indústrias de alimentos e farmacêutica. É utilizado sob a forma de ácido puro para melhorar notas de manteiga no sabor dos alimentos e seus ésteres são ainda utilizados como aditivos para melhorar a fragrância de frutas e como compostos aromáticos para a produção de perfumes (SHARPELL, 1985; VANDAK et al., 1997).

Industrialmente o ácido butírico é produzido principalmente pela oxidação do butiraldeído obtido a partir de propileno por oxossíntese (HUANG et al., 2002). No entanto, a procura de ácido butírico produzido a partir da fermentação microbiana é elevada devido a uma maior preferência por parte dos consumidores e fabricantes para a utilização de ingredientes naturais de base biológica em alimentos, cosméticos e produtos farmacêuticos. O potencial da produção de ácido butírico de base biológica e os seus ésteres é grande e promissor para exploração (ZHU; WU; YANG, 2002).

1.3.1 Ácidos orgânicos na fermentação de amido de mandioca

Vários compostos de interesse comercial, especialmente os ácidos orgânicos, podem ser formados durante a fermentação do amido

de mandioca, o que possibilitaria a utilização posterior das águas sobrenadantes desse processo.

Demiate et al. (1999) analisaram 29 amostras de amido de mandioca fermentado das regiões Sul e Sudeste adquiridos diretamente das fábricas ou do comércio, e obtiveram os seguintes resultados: das oito amostras do estado do Paraná, somente uma não apresentou ácido butírico na sua composição; das onze amostras de Santa Catarina, seis apresentaram os ácidos típicos do amido de mandioca fermentado (ácidos láctico, acético, butírico e propiônico) e cinco apresentaram ácido láctico e acético ou somente ácido láctico; das seis amostras de Minas Gerais, cinco apresentaram ácido láctico e acético e, somente uma apresentou ácido butírico em sua composição, demonstrando assim, uma grande heterogeneidade no perfil de ácidos orgânicos obtidos na fermentação do polvilho azedo. Os autores verificaram que os ácidos láctico, propiônico, acético e butírico predominam no polvilho azedo, os quais possivelmente também estão presentes nas águas desse processo.

Reginatto et al. (2009) realizaram modificações no meio de fermentação do amido através da adição de glicose como fonte de carbono e de cloreto de amônio como fonte de nitrogênio para verificar o efeito desses sobre a produção de ácidos orgânicos e as características do polvilho azedo. Foi verificado que a adição de nitrogênio promoveu o aumento da concentração de ácidos orgânicos nas águas de fermentação, especialmente os de cadeia mais longa, como o propiônico. A adição de cloreto de amônio 0,1% (p/v) no meio fermentativo propiciou um incremento em torno de 50%, na produção de ácidos orgânicos na água de fermentação sem alterar a característica de expansão do polvilho azedo.

No entanto, os ácidos presentes nessas águas não tinham sido estudados até a realização do trabalho de Avancini (2007), no qual se verificou que a concentração de ácido láctico foi maior na água residual do que o encontrado no trabalho de Demiate et al. (1999) no polvilho azedo, o que sugere estudos posteriores devido à presença deste

importante aditivo químico nas águas residuais do processo de produção do polvilho azedo, ainda visto como poluente orgânico.

Considerando os resultados encontrados na literatura para o teor de ácidos orgânicos em amostras de polvilho azedo, as águas da fermentação do amido de mandioca, por solubilizarem estes ácidos, podem representar uma alternativa para a obtenção dos mesmos.

As aplicações dos ácidos orgânicos são diversas na indústria de alimentos e nas áreas química e veterinária. Na indústria de alimentos agem como aromatizantes e também como conservadores retardando a degradação enzimática. Agem diretamente como fortes inibidores do crescimento microbiano podendo ter uso na preservação de alimentos, grãos e rações (ALBUQUERQUE; ITO; MIYAJI, 1998; RICKE, 2003), na sanitização da carne (AL-TARAZI; ALSHAWABKEH, 2003) e como aditivo promotor de crescimento na ração em substituição aos antibióticos (GARCIA et al., 2000). Além disso, possuem atuação como agentes que se ligam a metais formando os quelatos metálicos, os quais previnem ou reduzem a oxidação de metais (RICKE, 2003).

Como agentes antimicrobianos naturais, a ação conservadora dos ácidos orgânicos resulta da acidificação (pela adição de ácidos ou decorrente da fermentação), atuando sobre a força próton motriz (FPM) dos micro-organismos, que controla a síntese de ATP e o acúmulo de íons e outros metabólitos no interior das células e com o seu colapso ocorre a paralisação de todas as reações que requerem energia, levando à morte celular (McAULIFFE; ROSS; HILL, 2001).

1.3.2 Metodologias analíticas para a identificação e a quantificação de ácidos orgânicos

Vários métodos têm sido relatados para avaliação de ácidos orgânicos, como espectrofotometria (VEREDA et al., 1998), enzimáticos (PUCHADES et al., 1991), cromatografias líquida e gasosa (WANG et al., 1993; LIAN et al., 1999; SHUI; LEONG, 2002; CAWTHRAY, 2003; KEREM et al., 2004; KOTANI et al., 2004;

COCCHI et al., 2006; FONTANNAZ; KILINE; HEUDI, 2006; HÉRNANDEZ; LOBO; GONZÁLEZ, 2006; SCHERER et al., 2012), eletroforese capilar (CORTACERO-RAMÍREZ et al., 2005; MATO et al., 2006a; MATO et al., 2006b) e titulação (AOAC, 1990).

Na identificação e quantificação dos ácidos orgânicos em produtos fermentados, como os vinhos, e em águas residuais, podem ser citadas principalmente as técnicas de eletroforese capilar e cromatografia gasosa e líquida (ÁBALOS; BAYONA; PAWLISZYN, 2000; CRUWYS et al., 2002; ESTEVES et al., 2004; DESTANDAU et al., 2005; RIZZON; SGANZERLA, 2007; KRITSUNANKUL; PRAMOTE; JAKMUNEE, 2009; PERES et al., 2009; ZHENG et al., 2009). Essas técnicas de separação vêm se destacando na química analítica pela capacidade de realizarem análises qualitativas e quantitativas em amostras ambientais, farmacêuticas, biológicas e em alimentos (RIBANI et al., 2004).

Devido a facilidade em efetuar a separação, identificação e quantificação de espécies químicas, a cromatografia ocupa um lugar de destaque dentre os métodos analíticos modernos, podendo ser utilizada isoladamente ou em conjunto com outras técnicas instrumentais de análise (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006). Sendo a cromatografia um método físico-químico, ela fundamenta-se na migração diferencial dos componentes de uma mistura, o que ocorre devido a diferentes interações entre duas fases imiscíveis, sendo uma fase fixa que tem uma grande área superficial chamada fase estacionária, e a outra um fluido ou um gás (cromatografia líquida e cromatografia gasosa, respectivamente) que se move através da fase estacionária, sendo chamada de fase móvel (LANÇAS, 1993; DEGANI; CASS; VIEIRA, 1998).

Na cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) são utilizadas colunas fechadas que contêm partículas muito finas que proporcionam separações muito eficientes (que se baseiam nas polaridades dos compostos), são utilizadas altas pressões para forçar a passagem do solvente e assim diminuir o tempo da análise (HARRIS, 2005).

A eletroforese capilar (CE, do inglês *capillary electrophoresis*) é definida como uma técnica de separação baseada na migração diferenciada de compostos iônicos ou ionizáveis em um campo elétrico, ou ainda, migração diferenciada de compostos neutros que possam interagir com substâncias que apresentem velocidade de migração diferente da velocidade de migração do fluxo eletrosmótico (EOF, do inglês *electroosmotic flow*) (TAVARES, 1996; TAVARES, 1997; SILVA, 2007).

Dentre as inúmeras vantagens da CE, além da simplicidade instrumental, alta performance e versatilidade analítica, podem ser citadas: baixo custo (volume reduzido de solventes e mínima geração de resíduos), volume de injeção da amostra na ordem de nanolitros e compatibilidade com uma variedade de sistemas de detecção (TAVARES, 1996; SILVA, 2007, MICKE, 2009; PIÑERO; BAUZA; ARCE, 2011).

REFERÊNCIAS

ÁBALOS, M.; BAYONA, J. M.; PAWLISZYN, J. Development of a headspace solid-phase microextraction procedure for the determination of free volatile fatty acids in waste waters. **Journal of Chromatography A**, v. 873, p. 107-115, 2000.

ALBUQUERQUER, R.; ITO, N. M. K.; MIYAJI, C. I. Tratamento de rações de aves com ácidos orgânicos: estudo da atividade bactericida e avaliação de técnicas de recuperação de *Salmonella* spp. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 35, n. 6, p. 279-282, 1998.

AL-TARAZI, Y. H.; ALSHAWABKEH, K. Effect of dietary formic and propionic acids on *Salmonella pullorum* shedding and mortality in layer chicks after experimental infection. **Journal of Veterinary Medicine B**, v. 50, n. 3, p. 112-117, 2003.

AMANTE, E. R. **Caracterização de amidos de variedades de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) e de batata-doce (*Ipomoea***

batatas). 1986. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 1986.

AMANTE, E. R. **Proposições Metodológicas para a Minimização e Valorização de Resíduos de Feculárias e das Indústrias Processadoras de Aves, Suínos e Pescados do Estado de Santa Catarina**. 1997. 178 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Produção) - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 1997.

AO, Z.; JANE, J. Characterization and modeling of the A- and B-granule starches of wheat, triticale, and barley. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, p. 46-55, 2007.

AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, 15.ed. Arlington, VA, 1990.

APLEVICZ, K. S.; DEMIATE, I. M. Characterization of native and modified cassava starches and their use in baked products. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 478-484, 2007.

ASCHERI, D. P. R.; VILELA, E. R. Alterações do polvilho de mandioca pela fermentação no fabrico de biscoitos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 269-279, 1995.

AVANCINI, S. R. P. **Caracterização físico-química, microbiológica e toxicológica das águas de fermentação do amido de mandioca na produção do polvilho azedo**. 2007. 104 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

AVANCINI, S. R. P.; FACCIN, G. L.; TRAMONTE, R.; ROVARIS, A. A.; PODESTA, R.; SOUZA, N. M. A. de; VIEIRA, M. A. ; AMANTE, E. R. Cassava starch fermentation wastewater: characterization and preliminary toxicological studies. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, p. 2273-2278, 2007.

AYERNOR, G.S.; HAMMOND, T.K., GRAFFHAM, A. The combination of rice malt and amyloglucosidase for the production of sugar syrup from cassava flour. **African Journal of Science and Technology**, v.3, n.1, p.10-17, 2002.

BELITZ, H.D., GROSCH, W. **Química dos Alimentos**. 2ª ed. Ed. Acribia, Zaragoza. Espanha. 1997.

BIAZOTTO, L. M. **Utilização das águas da fermentação do polvilho azedo na elaboração de uma nova bebida**. 2008. 88 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2008.

BIAZOTTO, L. M.; AMBONI, R. D. de M. C.; REGINATTO, V.; CASTRO, F. P. de; AVANCINI, S. R.; AMANTE, E. R. Frëshpa: a new non-alcoholic beverage from sour cassava starch fermentation water. **Beverage & Food World**, p. 76-80, 2010.

BILIADERIS, C.G. The structure and interactions of starch with food constituents. **Canadian Journal Physiology Pharmacology**, v.49, p.60-78, 1991.

BRASIL. Resolução nº 12/78 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 1978.

BRASIL. Resolução, n. 263 de setembro 2005. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, p. 368-369, 2005.

BULÉON, A.A; COLONNA, P; PLANCHOT, V; BALL, S.G. Starch granules: struture and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.23, p.85-112, 1998.

CAMARGO, C.; COLONNA, P.; BULEON, A.; RICHARD-MOLARD, D. Functional properties of sour cassava (*Manihot utilissima*) starch: polvilho azedo. **Journal of the Science of Food and Agriculture**,v. 45, n. 3, p. 273-289, 1998.

CÁRDENAS, O.S.; BUCKLE, T.S. Sour cassava starch production: a preliminary study. **Journal of Food Science**, v. 45, p. 1509-1512, 1980.

CARVALHO, E. P.; CANHOS, V. P.; RIBEIRO, V. E., CARVALHO, H. P. Polvilho Azedo: Aspectos físicos, químicos e microbiológicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 129-137, 1996.

CAVALLET, L. E.; FERREIRA, S. M. R.; LIMA, J. J. de; TULLIO, L. T.; QUADROS, D. A. de. Ocorrência do processo de fixação biológica de N₂ atmosférico na fermentação de fécula de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 522-526, 2006.

CAWTHRAY, G. R. Improved reversed-phase liquid chromatography method for the analysis of lowmolecular-mass organic acids in plant root exudates. **Journal of Food Chromatography A**, v. 1011, p. 233-240, 2003.

CEREDA, M. P. **Alguns aspectos sobre a fermentação da fécula de mandioca**. 1973. 89 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas. Botucatu, 1973.

CEREDA, M. P. Avaliação da qualidade de duas amostras de fécula fermentada de mandioca (Polvilho Azedo). **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n. 3, p. 305-320, 1983.

CEREDA, M. P. **Propriedades gerais do amido**. São Paulo, Fundação Cargill, 221 p. (Série: Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino-americanas, v. 1) 2002.

CEREDA, M.P. Tecnologia e qualidade do polvilho azedo. **Informe Agropecuário**, v. 13, n. 145, p.63-68, 1987.

CEREDA, M. P.; GIAJ-LEVRA, L. A. Constatação de bactérias não simbióticas fixadoras de nitrogênio em fermentação natural de fécula de mandioca. **Revista Brasileira de Mandioca**, v.6, n.1, p. 29-33, 1987.

CEREDA, M. P.; LIMA, U. A. Aspectos sobre a fermentação da fécula de mandioca. II-Controle das fermentações realizadas em laboratório. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.15, p.107-122, 1981.

CEREDA, M. P.; NUNES, O. L. G.; VILPOUX, O. **Tecnologia da produção de polvilho azedo**, Botucatu, Centro de Raízes Tropicais (CERAT), Universidade Estadual Paulista, 1995.

CEREDA, M. P.; VILPOUX, O.; DEMIATE, I. M. Amidos modificados. In: CEREDA, M. P., VILPOUX, O. F. **Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas latino americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2003. Cap.12. p. 246-332.

CHARLES, A. L.; CHANG, Y. H.; KO, W. C.; SRIROTH, K.; HUANG, T. C. Influence of amylopectin structure and amylose content on the gelling properties of five cultivars of cassava starches. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 2717-2725, 2005.

CHEFTEL, J.C.; CHEFTEL, H. **Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos**. V.I. Editorial Acribia S.A. Zaragoza. 1976.

CHOTANI, G.; DODGE, T.; HSU, A.; KUMAR, M.; LADUCA, R.; TRIMBUR, D. WEYLER, W.; SANFORD, K. The commercial production of chemicals using pathway engineering. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1543, p. 434-455, 2000.

CHRONAKIS, I.S. On the molecular characteristics, composition properties, and structural – functional mechanisms of maltodextrins: a review. **Critical Reviews in Food Science**, v.38, n.7, p.599-637, 1998.

CIACCO, C. F.; CRUZ, R. **Fabricação do amido e sua utilização**. São Paulo, Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia do Estado de São Paulo, 1982. 152 p.

COCCHI, M.; DURANTE, C.; GRANDI, M.; LAMBERTINI, P.; MANZINI, D.; MARCHETTI, A. Simultaneous determination of sugars and organic acids in aged vinegars and chemometric data analysis. **Talanta**, v. 69, p. 1166-1175, 2006.

COLLINS, C.H; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. **Fundamentos da cromatografia**. Campinas: Editora da UNICAMP, 2006. 452 p.

CORTACERO-RAMÍREZ, S.; SEGURA-CARRETERO, A.; CASTRO, M. H. B. de; FERNANDEZ-GUTIÉRREZ, A. Determination of low-molecular-mass organic acids in any type of beer samples by coelectroosmotic capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v. 1064, p. 115-119, 2005.

CROCOMO, O. J. **Transformações metabólicas em microrganismos**. Instituto de Bioquímica da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1967. 165 p.

CRUWYS, J. A.; DINSDALE, R. M.; HAWKES, F. R.; HAWKES, D. L. Development of a static headspace gas chromatographic procedure for the routine analysis of volatile fatty acids in wastewaters. **Journal of Chromatography A**, v. 945, p. 195-209, 2002.

DAMASCENO, S.; CEREDA, M. P.; PASTORE, G. M.; OLIVEIRA, J. G. Production of volatile compounds by *Geotrichum fragrans* using cassava wastewater as substrate. **Process Biochemistry**, v. 39, n. 4, p. 411-414, 2003.

DATTA, R.; HENRY, M. Lactic acid: recent advances in products, processes and technologies - A review. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 81, p. 1119-1129, 2006.

DATTA, R.; TSAI, S. P.; BONSIGNORE, P.; MOON, S. H.; FRANK, J. R. Technological and economic potential of poly(lactic acid) and lactic acid derivatives. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 16, p. 221-231, 1995.

DEGANI, A.L.G.; CASS, Q.B.; VIEIRA, P.C. Cromatografia: um breve ensaio. **Atualidades em Química**, n.7, p.21-25, 1998.

DEMIATE, I. M.; WOSIACKI, G.; CEREDA, M. P.; MESTRES, C. Viscographic characteristics of oxidized cassava starches assessed by RVA. **Publicatio UEPG - Ciências Exatas e da Terra**, v. 11, n. 1, p. 07-17, 2005.

DEMIATE, I. M.; SOUZA, T. O. de; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G.; CEREDA, M. P. Características de qualidade de polvilho azedo. Parte 3 - Rio Grande do Sul. **Publicatio UEPG - Ciências Exatas e da Terra**, v. 4, n. 1, p.97-112, 1998.

DEMIATE, I. M.; CEREDA, M. P. Some physico-chemical characteristics of modified cassava starches presenting baking property. **Energia na Agricultura**, v. 15, n. 3, p. 36-46, 2000.

DEMIATE, I. M.; DUPUY, N.; HUVENNE, J. P.; CEREDA, M. P.; WOSIACKI, G. Relationship between banking behavior of modified cassava starches and starch chemical structure determined by FTIR spectroscopy. **Carbohydrate Polymers**, v. 42, p. 149-158, 2000.

DEMIATE, I. M., BARANA, A. C., CEREDA, M. P., WOSIACKI, G. Organic acid profile of commercial sour cassava starch. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n.1, p.131-135, 1999.

DESTANDAU, E.; VIAL, J.; JARDY, A.; HENNION, M. C.; BONNET, D.; LANCELIN, P. Development and validation of a reversed-phase liquid chromatography method for the quantitative determination of carboxylic acids in industrial reaction mixtures. **Journal of Chromatography A**, v. 1088, p. 49-56, 2005.

DINIZ, I. P. **Caracterização tecnológica do polvilho azedo produzido em diferentes regiões do estado de Minas Gerais**. 2006. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

EPAGRI. Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina. **Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina 2012-2013**. Disponível em: <http://cepa.epagri.sc.gov.br/Publicacoes/Sintese_2013/sintese-2013.pdf>. Acesso em: 02 abr 2014.

ESTEVES, V. I.; LIMA, S. S. F.; LIMA, D. L. D.; DUARTE, A.C. Using capillary electrophoresis for the determination of organic acids in Port wine. **Analytica Chimica Acta**, v. 5131, p. 163-167, 2004.

FENNEMA, O.R. **Química de los alimentos**. 2ª edição. Ed. Acribia S.A. Zaragoza. 2000.

FONTANNAZ, P.; KILLINC, T.; HEUDI, O. HPLC-UV determination of total vitamin C in a wide range of fortified food products. **Food Chemistry**, v. 94, p. 626-631, 2006.

FRANCO, C.M.L.; DAIUTO, E.R.; DEMIATE, I.M.; CARVALHO, L.J.C.B.; LEONEL, M.; CEREDA, M.P.; VILPOUX, O.F.; SARMENTO, S.B.S. **Propriedades gerais do amido**. Fundação Cargill. Campinas. 2001.

FREITAS, R. A.; PAULA, R. C.; FEITOSA, J. P. A.; ROCHA, S.; SIERAKOWSKI, M. R. Amylose contents, rheological properties and gelatinization kinetics of yam (*Dioscorea alata*) and cassava (*Manihot utilissima*) starches. **Carbohydrate polymers**, v. 55, n. 1, p. 3-8, 2004.

GARCIA, R. G.; ARIKI, J.; MORAES, V. M. B.; KRONKA, S. N.; BORGES, S. A.; MURATA, L. S.; CAMPOS, V. A. Ação isolada ou combinada de ácidos orgânicos e promotor de crescimento em rações de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 2, n. 2, p. 149-154, 2000.

GUILBOT, A.; MERCIER, C. **Starch**. In: The polysaccharides, v. 3, p 209-273, 1985.

GUYOT, J. P.; MORLON-GUYOT, J. Effect of different cultivation conditions on *Lactobacillus manihotivorans* OND 32T, an amylolytic lactobacillus isolated from sour starch cassava fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, v.67, p.217-225. 2001.

HAYNES, W.M. **CRC Handbook of Chemistry and Physics**. 95th ed., 2014-2015.

HARRIS, D.C. **Análise Química Quantitativa**. 6 ed. Rio de Janeiro: LTC-Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 2005. 876p.

HARRIS, D.C. **Quantitative chemical analysis**. 5th edition, W. H. Freeman, Inc. New York, 1999. Appendix G (acid dissociation constants), p. ap15-ap26.

HERMANSSON, A. M.; SVEGMARK, K. Development in the understanding of starch functionality. **Trends in Food Science and Technology**, v.7, p.345-353, 1996.

HERNÁNDEZ, Y.; LOBO, M. G.; CONZÁLEZ, M. Determination of vitamin C in tropical fruits: a comparative evaluation methods. **Food Chemistry**, v. 96, n. 4, p. 654-664, 2006.

HOFVENDAHL, K.; HAHN-HÄGERDAL, B. Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 26, p. 87-107, 2000.

HOSENEY, R.C. **Principles of Cereal Science and Technology**. St. Paul, Minnesota, USA: AACC, 1996. 19 p.

HUANG, Y. L. ; WU, Z.; ZHANG, L.; CHEUANG, C.M.; YANG, S. T. Production of carboxylic acids from hydrolyzed corn meal by immobilized cell fermentation in a fibrous-bed bioreactor. **Bioresource Technology**, v. 82, n. 1, p. 51-59, 2002.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/default.shtm>>. Acesso em: 02 abr 2014.

ILMÉN, M.; KOIVURANTA, K.; RUOHONEN, L.; SUOMINEN, P.; PENTTILÄ, M. Efficient production of L-lactic acid from xylose by *Pichia stipitis*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, p. 117-123, 2007.

JOHN, R. P.; ANISHA, G. S.; NAMPOOTHIRI, K. M.; PANDEY, A. Direct lactic acid fermentation: Focus on simultaneous saccharification and lactic acid production. **Biotechnology Advances**, v. 27, p. 145-153, 2009.

JOHN, R. P.; NAMPOOTHIRI, K. M.; PANDEY, A. Fermentative production of lactic acid from biomass: an overview on process developments and future perspectives. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 74, p. 524-534, 2007.

KARP, S. G.; IGASHIYAMA, A. H.; SIQUEIRA, P. F.; CARVALHO, J. C.; VANDENBERGHE, L. P. S.; THOMAZ-SOCCOL, V.; CORAL, J.; THOLOZAN, J. L.; PANDEY, A.; SOCCOL, C. R. Application of the biorefinery concept to produce L-lactic acid from the soybean

vinasse at laboratory and pilot scale. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 1765-1772, 2011.

KEREM, Z.; BRAVDO, B. A.; SHOSEYOV, O.; TUGENDHAFT, Y. Rapid liquid chromatography-ultraviolet determination of organic acids and phenolic compounds in red wine and must. **Journal of Chromatography A**, v. 1052, p. 211-215, 2004.

KIMARYO, V. M.; MASSAWE, G. A.; OLASUPO, N. A.; HOLZAPFEL, V. H. The use of a starter in the fermentation of cassava for the production of “kivunde”, a traditional Tanzanian food product. **International Journal of Food Microbiology**, v. 56, p.179-190, 2000.

KOTANI, A.; MIYAGUCHI, Y.; TOMITA, E.; TAKAMURA, K.; KUSU, F. Determination of organic acids by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection during wine brewing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 6, p. 1440-1444, 2004.

KRITSUNANKUL, O.; PRAMOTE, B.; JAKMUNEE, J. Flow injection on-line dialysis coupled to high performance liquid chromatography for the determination of some organic acids in wine. **Talanta**, v. 79, p. 1042-1049, 2009.

LACERDA, I. C.A.; MIRANDA, R. L.; BEATRIZ, M.; BORELLI, A.; NUNES, A. C.; NARDI, R. M. D.; LACHANCE, M.; ROSA, C. A. Lactic acid bacteria and yeasts associated with spontaneous fermentations during the production of sour cassava starch in Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 105, p. 213-219, 2005.

LAJOLO, F. M.; MENEZES, E. W. **Carboidratos en alimentos regionales Iberoamericanos**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2006. 648p.

LANÇAS, F.M. **Cromatografia em fase gasosa**. São Carlos: Acta, 1993. 254p.

LEONEL, M.; JACKEY, S.; CEREDA, M. P. Processamento industrial de fêcula de mandioca e batata doce - um estudo de caso. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 3, p. 343-345, 1998.

LIAH, H. Z.; MAO, L.; YE, X. L.; MIAO, J. Simultaneous determination of oxalic, fumaric, maleic and succinic acids in tartaric and malic acids for pharmaceutical use by ion-suppression reversed-phase high performance liquid chromatography. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 19, p. 621-625, 1999.

LINDSAY, R. C. Aditivos Alimentares. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 537-584.

LIU, S. Q. Practical implications of lactate and pyruvate metabolism by lactic acid bacteria in food and beverage fermentations. **International Journal of Food Microbiology**, v. 83, p. 115-131, 2003.

MAEDA, K. C.; CEREDA, M. P. Avaliação de duas metodologias de expansão ao forno do polvilho azedo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 2, p. 139-143, 2001.

MARCON, M. J. A.; AVANCINI, S. R. P.; AMANTE, E. R. **Propriedades químicas do amido de mandioca e do polvilho azedo**. Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. 101 p.

MARCON, M. J. A. **Efeito do processo fermentativo pelo método tradicional e com adição de glicose, sobre a qualidade do polvilho azedo**. 2004. 126 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

MARCON, M. J. A. **Proposta para o mecanismo de expansão do polvilho azedo com base nas características físico-químicas**. 2009. 187 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

MARCON, M. J. A.; VIEIRA, G. C. N.; DE SIMAS, K. N.; SANTOS, K.; VIEIRA, M. A.; AMBONI, R. D. M. C.; AMANTE, E. R. Effect of the improved fermentation on physicochemical properties and sensorial

acceptability of sour cassava starch. **Brazilian Archives of Biology and Biotechnology**, v. 50, n. 6, p. 1079-1087, 2007.

MARCON, M. J. A.; VIEIRA, M. A.; SANTOS, K.; DE SIMAS, K. N.; AMBONI, R. D. M. C.; AMANTE, E. R. The effect of fermentation on cassava starch microstructure. **Journal of Food Process Engineering**, v. 29, p. 362-372, 2006.

MATO, I.; HUIDOBRO, J. F.; SIMAL-LOZANO, J.; SANCHO, M.T. Rapid determination of nonaromatic organic acids in honey by capillary zone electrophoresis with direct ultraviolet detection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 1541-1550, 2006a.

MATO, I.; HUIDOBRO, J. F.; SIMAL-LOZANO, J.; SANCHO, M.T. Simultaneous determination of organic acids in beverages by capillary zone electrophoresis. **Analytica Chimica Acta**, v. 565, p. 190-197, 2006b.

McAULIFFE, O.; ROSS, R.P.; HILL, C. Lantibiotics: structure, biosynthesis and mode of action. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 25, p. 285-308, 2001.

MICKE, G. A.; COSTA, A. C. O.; HELLER, M.; BARCELLOS, M.; PIOVEZAN, M.; CAON, T.; OLIVEIRA, M. A. L. Development of a fast capillary electrophoresis method for the determination of propranolol - total analysis time reduction strategies. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, p. 7957-7961, 2009.

MESTRES, C.; ROUAU, X. Influence of natural fermentation and drying conditions on the physicochemical characteristics of cassava starch. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 74, n. 2, p. 147-155, 1997.

MOORE, G.R.P. **Amido de milho e mandioca na produção de maltodextrinas**. 2001. 85 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001.

NARAYANAN, N.; ROYCHOUDHURY, P. K.; SRIVASTAVA, A. L. (+) lactic acid fermentation and its product polymerization. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 7, p. 167-179, 2004.

NGEVE, J. M. Cassava root yields and culinary qualities as affected by harvest age and test environment. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 4, n. 83, p. 249 -257, 2003.

PADONOU, W.; MESTRES, C.; NAGÔ, M. C. The quality of boiled cassava roots: instrumental characterization and relationship with physicochemical properties and sensorial properties. **Food Chemistry**, v. 89, p. 261-270, 2005.

PANDEY, A.; SOCCOL, C. R.; NIGAM, P.; SOCCOL, V. T.; VANDENBERGHE, L. P. S.; MOHAN, R. Biotechnological potential of agro-industrial residues. II: cassava bagasse. **Bioresource Technology**, v. 74, n. 1, p. 81-87, 2000.

PANDEY, A.; SOCCOL, C. R.; RODRIGUEZ-LEON, J. A.; NIGAM, P. **Solid state fermentation in biotechnology: Fundamentals and applications**. New Delhi: Asiatech Publishers, 2001. 221 p.

PARKER, S.P. (ed.). **Dictionary of chemistry**. Ed. internacional. Nova Iorque: McGraw-Hill, 1997. p. 59, 363 p.

PEREIRA, J.; CIACCO, C. F.; VILELA, E. R.; TEIXEIRA, A. L. de S. Féculas fermentadas na fabricação de biscoitos: estudos de fontes alternativas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 2, p. 287-293, 1999.

PERES, R. G.; MORAES, E. P.; MICKE, G. A.; TONIN, F. G.; TAVARES, M. F. M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Rapid method for the determination of organic acids in wine by capillary electrophoresis with indirect UV detection. **Food Control**, v. 20, p. 548-552, 2009.

PERONI, F. H. G. **Características estruturais e físico-químicas de amidos obtidos de diferentes fontes botânicas**. 2003. 118 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, São Paulo, 2003.

PIÑERO, M.; BAUZA, R.; ARCE, L. Thirty years of capillary electrophoresis in food analysis laboratories: Potential applications. **Electrophoresis**, v. 32, p. 1379-1393, 2011.

PLATA-OVIEDO, M.; CAMARGO, C. Effect of acid treatments and drying processes on physico-chemical and functional properties of cassava starch. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 77, n. 1, p. 103-108, 1998.

PRESCOTT, S. C.; DUNN, C. G. **Industrial Microbiology**. 3th edition, McGraw-Hill Book Company, Inc. Nova Iorque, 1959, 943 p.

PUCHADES, R.; HERRERO, M. A.; MAQUIEIRA, A.; ATIENZA, J. Simultaneous enzymic determination of L-malic acid and L-lactic acid in wine by flow injection analysis. **Food Chemistry**, v. 42, p. 167-182, 1991.

RAKSHIT, S. K. **Recent trends in cassava starch production and application**. Tailândia. 2004. Disponível em:
<<http://www.agfdt.de/loads/st00/raksit.pdf>>. Acesso em: 22 de janeiro de 2004.

RAUPP, D.S.; MOREIRA, S.S.; BANZATTO, D.A.; SGARBIERI, V.C. Composição e propriedades fisiológico-nutritivas de uma farinha rica em fibras insolúvel obtida do resíduo fibroso de fecularia de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n.2, p.205-210, 1999.

REGINATTO, V.; KURTZ, D.; MARCON M. J. A.; XAVIER J. J. M.; SCUSSEL, V. M.; AMANTE, E. R. **Modificação do Processo de Produção de Polvilho Azedo Visando o Aumento na Concentração de Ácidos Orgânicos na Água Residuária**. 2º International Workshop Advances in Cleaner Production. São Paulo, 2009.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C.B.G.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RICKE, S. C. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. **Poultry Science**, v. 82, p. 632-639, 2003.

RIZZON, L.A.; SGANZERLA, V.M.A. Ácidos tartárico e málico no mosto de uva em Bento Gonçalves, RS. **Ciência Rural**, v. 37, p. 911-914, 2007.

SCHERER, R.; RYBKA, A. C. P.; BALLUS, C. A.; MEINHART, A. D.; FILHO, J. T.; GODOY, H. T. Validation of a HPLC method for simultaneous determination of main organic acids in fruits and juices. **Food Chemistry**, v. 135, p. 150-154, 2012.

SHARPELL, F. H. J. **Microbial flavors and fragrances**. In: Moo-YoungM, editor. *Comprehensive biotechnology*. New York: PergamonPress, p. 965-981, 1985.

SHREVE, R.N. e BRINK Jr., J.A. **Indústria de processos químicos**. 4^a ed. Trad. H. Macedo. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1980. p. 242, 400, 483-484, 544, 689.

SNYDER, C.H. **The extraordinary chemistry of ordinary things**. 2^a ed. Nova Iorque: John Wiley & Sons, 1995. p. 242-245, 574-575.

SHUI, G.; LEONG, L. P. Separation and determination of organic acids and phenolic compounds in fruit juices and drinks by HPLC. **Journal of Chromatography A**, v. 977, p. 89-96, 2002.

SILVA, J.A.F.; COLTRO, W. K. T.; CARRILHO, E.; TAVARES, M. F. M. Terminologia para as técnicas analíticas de eletromigração em capilares. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 740-744, 2007.

SILVEIRA, I. A.; CARVALHO, E. P.; PADUA, I. P. M.; DIONIZIO, F. L. Isolamento e caracterização da microbiota ácido láctica envolvida no processo fermentativo para produção de polvilho azedo - parte II. **Pro Homine**, v. 2, n. 2, p. 7-15, 2003.

SILVEIRA, I. A.; CARVALHO, E. P.; SCHWAN, R. I.; PILON, L. Aspectos gerais e microbiológicos da fermentação de fécula de mandioca para a produção de polvilho azedo. **Higiene Alimentar**, v. 14, n. 68/69, p. 26-31, 2000.

SLATTERY, C.J.; KAVAKLI, I.H.; OKITA, T.W. Engineering starch for increase quantity and quality. **Trends in Plant Science**, v. 5, n. 7, p. 291-297, 2000.

SOARES, R.M.D. **Caracterização parcial de amido em cultivares brasileiros de cevada (*Hordeum vulgare* L.)**. 127 f. 2003. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

SÖDERGÅRD, A., STOLT, M. Properties of lactic acid based polymers and their correlation with composition. **Progress in Polymer Science**, v. 27, p. 1123-1163, 2002.

SOLOMONS, T.W.G. **Química Orgânica 2**. 6ª ed. Trad. H. Macedo. Rio de Janeiro, LTC, 1996. p. 91-96.

TAVARES, M. F. M. Eletroforese capilar: conceitos básicos. **Química Nova**, v. 19, n. 2, p. 173-181, 1996.

TAVARES, M. F. M. Mecanismos de separação em eletroforese capilar. **Química Nova**, v. 20, n. 5, p. 493-511, 1997.

TAKIZAWA, F. F., SILVA, G.O., KONKEL, F. E.; DEMIATE, I. M. Characterization of tropical starches modified with potassium permanganate and lactic acid. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.47, n. 6, p. 921-931, 2004.

TETCHI, F. A.; ROLLAND-SABATÉ, A.; AMANI, G. N. G.; COLONNA, P. Molecular and physicochemical characterization of starches from yam, cocoyam, cassava, sweet potato and ginger produced in Ivory Coast. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, p. 1906-1916, 2007.

VANDAK, D.; ZIGOVA, J.; STURDIK, E.; SCHLOSSER, S. Evaluation of solvent and pH for extractive fermentation of butyric acid. **Process Biochemistry**, v. 32, p. 245-251, 1997.

VARADARAJAN, S.; MILLER, D. J. Catalytic upgrading of fermentation-derived organic acids. **Biotechnology Progress**, v. 15, p. 845-854, 1999.

VEREDA, E.; DE TORRES, G.; RIVERO, A. Determination of organic acid in wines. **Quimica Analítica**, v. 17, p. 167–175, 1998.

VILELA, E. R.; FERREIRA, M. G. Tecnologia de produção e industrialização do amido de mandioca. . **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte, v.13, n.145, p.69-73, 1987.

WANG, T.; GONZALEZ, A. R.; GBUR, E. E.; ASELAG, J. M. Organic acid changes during ripening of processing peaches. **Journal of Food Science**, v. 58, p. 631-639, 1993.

WEE, Y. J.; KIM, J. N.; RYU, H. W. Biotechnological production of lactic acid and its recent applications. **Food Technology and Biotechnology**, v. 44, p. 163-172, 2006.

WESTBY, A. Cassava utilization, storage and small-scale processing. **Cassava: Biology, Production and Utilization**. Chapter 14. CAB International. 2002.

WESTBY, A.; CEREDA, M. P. Production of fermented cassava starch (polvilho azedo) in Brazil. **Tropical Science**, v. 34, n. 2, p. 203-210, 1994.

WHISTLER, R. L.; BEMILLER, J. N. Starch. In: WHISTLER, R.L.; BeMILLER, J.N. **Carbohydrate Chemistry for the Food Science**. AACC. St Paul: Eagan Press, p. 117-151, 1997.

WOSIACKI, G; CEREDA, M. Valorização dos resíduos do processamento de mandioca. **Publication UEPG - Ciências Exatas e da Terra**, v. 8, n. 1, p. 27-43, 2002.

ZANIN, G.M. **Sacarificação de amido em reator do leiteo fluidificado com enzima amiloglicosidase imobilizada**. 1989. 455 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 1989.

ZHENG, Y. J.; DUAN, Y. T.; ZHANG, Y. F.; PAN, Q. H.; LI, J. M.; HUANG, W. D. Determination of organic acids in red wine and must on only one RP-LC-Column directly after sample dilution and filtration. **Chromatographia**, v. 69, p. 1391-1395, 2009.

ZHU, Y.; WU, Z.; YANG, S. T. Butyric acid production from acid hydrolysate of corn fibre by *Clostridium tyrobutyricum* in a fibrous-bed bioreactor. **Process Biochemistry**, v. 38, p. 657-666, 2002.

CAPÍTULO 2

Estudo da redução do tempo de fermentação de amido de mandioca através do monitoramento das águas sobrenadantes e das propriedades de expansão do polvilho azedo

Parte desse capítulo foi publicado em artigo:

AQUINO, A.C.M.S.; PEREIRA, J.M.; WATANABE, L.B.; AMANTE, E.R. Standardisation of the sour cassava starch reduces the processing time by fermentation water monitoring. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, p. 1892-1898, 2013.

Estudo da redução do tempo de fermentação de amido de mandioca através do monitoramento das águas sobrenadantes e das propriedades de expansão do polvilho azedo

Resumo

O empirismo em torno da produção do amido fermentado de mandioca justifica a realização de estudos para a definição do final do processo fermentativo. No presente trabalho foi acompanhado o pH, a acidez titulável e a concentração de sólidos totais em processo tradicional e modificado, com adição de glicose. Os produtos obtidos foram comparados entre si e com o amido de mandioca não fermentado e uma amostra de polvilho azedo comercial, quanto à densidade específica, índice de expansão e volume específico. A adição de glicose reduziu o tempo do processo fermentativo em 13 dias (40,6%), e o polvilho azedo obtido pelo método modificado apresentou, em apenas 19 dias de fermentação, propriedades de expansão semelhantes ou até mesmo superiores às do polvilho azedo comercial analisado. A definição do tempo de fermentação através da determinação da acidez titulável e do pH e do volume específico pode contribuir tanto para a definição da retirada do amido fermentado quanto para futuras aplicações das águas da fermentação como matéria prima para novos produtos, uma vez que quando o amido é retirado dos tanques para a secagem, as águas residuais com alta acidez são consideradas como efluentes na indústria produtora de polvilho azedo.

Palavras-chave: Amido de mandioca, Fermentação, Polvilho azedo, Águas residuais.

Study of time reduction of cassava starch fermentation by monitoring the supernatant water and the sour cassava starch expansion properties

Abstract

The empiric nature of sour cassava starch production justifies studies to determine the end of the fermentation process. This present work investigated the pH, titratable acidity and total solids in the traditional method and in a method modified through addition of glucose. The products obtained were compared with each other and also with commercial native cassava starch and sour cassava starch in relation to specific density, expansion rate and specific volume. The addition of glucose decreased fermentation time by 13 days (40.6%), and the sour cassava starch obtained through the modified method showed expansion properties similar to or even greater than the commercial sour cassava starch in just 19 days of fermentation. Determining fermentation time through titratable acidity, pH and specific volume can help to establish the optimal time for removing the sour cassava starch from the fermentation tanks and also promote future applications of the fermentation water as a raw material for new products because, after the starch is removed from the tanks for drying, the fermentation water that shows high acidity is considered wastewater.

Keywords: Cassava starch, Fermentation, Sour cassava starch, Wastewater.

1 INTRODUÇÃO

Muitos produtos industriais hoje bem aceitos no mercado são originados de processos artesanais que foram evoluindo ao longo do tempo. A conversão das indústrias tradicionais em inovadoras requer um profundo conhecimento destes empíricos processos industriais. No Brasil e em alguns países da América Latina, tais como Argentina, Colômbia e Equador, o amido de mandioca é naturalmente fermentado para a obtenção de um produto denominado polvilho azedo.

O polvilho azedo é o amido de mandioca modificado por processo de fermentação e secagem solar, apresentando características diferentes do amido de mandioca nativo. É um produto regional e de preparo artesanal, sendo produzido principalmente por indústrias rurais de pequeno porte (MAEDA; CEREDA, 2001).

A fermentação natural do amido de mandioca ocorre sem inoculação e sem suplementações nutricionais, sendo que o amido é o único substrato empregado para esse processo, que resulta em uma modificação na superfície dos grânulos, com perfurações provocadas por enzimas amilolíticas (MARCON et al., 2006), além de modificações na acidez, no pH e nas propriedades reológicas do produto (DEMIATE et al., 2000). A principal diferença entre o amido fermentado e o amido nativo de mandioca reside na propriedade de expansão.

A fermentação e a secagem ao sol modificam o amido, conferindo características tais como: alta habilidade para reter vapor e expandir durante o assamento. As modificações ocorridas durante o processo fermentativo do polvilho azedo são: redução do pH, formação de ácidos orgânicos, aumento da acidez titulável, ataque de enzimas amilolíticas, diminuição do poder de inchamento e da viscosidade, e aumento da solubilidade do polvilho (ASCHIERI; VILELA, 1995).

São frequentes as variações na qualidade do produto final para um mesmo produtor, partindo de matéria prima de mesma origem e, também entre diferentes produtores, isso ocorre devido à falta de controle de parâmetros no processo produtivo. Uma das formas de sobrevivência do setor é a busca pela eficiência do processo de produção

do polvilho, através da melhoria do processo tecnológico, para obter um produto com melhor qualidade e padronização.

Historicamente, as empresas produtoras obtêm apenas o polvilho azedo, que ao ser seco ao sol, completa as etapas do processo produtivo. O grânulo de amido é modificado por ação de micro-organismos, enzimas e ácidos orgânicos durante o processo fermentativo, enquanto a radiação solar contribui para a geração de compostos oxidados e finalização das características peculiares de dextrinas com diferentes graus de polimerização e grânulos de amido perfurados, que compõem a estrutura do tradicional polvilho azedo (MARCON et al., 2009).

Contrariamente a tendência natural em evoluir, este amido naturalmente modificado vem perdendo mercado, devido aos substituintes, tais como amido oxidado e amido modificado por ácido, os quais não possuem todas as características sensoriais, porém, apresentam capacidade de expansão, principal propriedade do polvilho azedo. Enquanto estes amidos modificados que substituem o polvilho azedo são considerados como os produtos evoluídos do mesmo, esta realidade representa um desestímulo às indústrias tradicionais, as quais são, em sua maioria, familiares e encontram como barreira no mercado o novo amido modificado, a menores preços do que o tradicional polvilho azedo.

São inúmeros os estudos identificando as diferentes etapas no processo fermentativo, tais como: micro-organismos envolvidos, efeito da radiação ultravioleta sobre o produto, bem como procurando explicar a propriedade de expansão do polvilho azedo (CÁRDENAS; BUKLE, 1980; ASCHERI; VILELA, 1995; PLATA-OVIEDO; CAMARGO, 1995; MESTRES; ROAU, 1997; SRIROTH et al., 1999; GUYOT; MARLON-GUYOT, 2001; GUYOT et al., 2002; SANNI; MORLON-GUYOT; GUYOT, 2002; APLEVICZ; DEMIATE, 2007; MARCON et al., 2006, 2007, 2009), no entanto, o processo industrial continua destinado apenas à produção do amido fermentado, negligenciando que a fermentação pode resultar em outros produtos.

Visando planejar futuras aplicações para os demais derivados da fermentação do amido de mandioca encontrados na fase líquida deste processo, bem como a obtenção de maior homogeneidade na qualidade do polvilho azedo, existe a necessidade de continuidade dos estudos sobre este processo. Por exemplo, todos os produtores usam a experiência prática para a definição do final do processo fermentativo, embora os trabalhos de Marcon (2004) e Marcon et al. (2006 e 2007), tenham definido os parâmetros de avaliação do final da fermentação para a obtenção do amido fermentado com as propriedades desejáveis de expansão, novos trabalhos se fazem necessários para a definição do tempo ideal de fermentação que associe as propriedades ideais de expansão com a geração de outros produtos nas águas sobrenadantes da fermentação, tais como ácidos orgânicos e carboidratos derivados da amilose e amilopectina do amido fermentado. Por exemplo, a bebida fermentada Frêshpa desenvolvida por Biazotto et al. (2010), foi obtida a partir das águas da fermentação do amido de mandioca e obteve significativa aceitação na avaliação sensorial.

A definição do tempo de fermentação, antes da secagem ao sol, representa importante informação para o setor produtivo, tanto para a obtenção do polvilho azedo de qualidade, quanto para a valorização dos derivados obtidos das águas da fermentação. O objetivo desse trabalho foi avaliar, através da caracterização das águas sobrenadantes e das propriedades de expansão do polvilho azedo, o processo fermentativo do amido de mandioca por meio do efeito da adição de glicose em relação ao método tradicional.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

Amostras de amidos comerciais (polvilho doce), da marca Yoki, foram fermentadas seguindo o procedimento de Marcon et al. (2006) e,

também, pelo procedimento tradicionalmente adotado pelas indústrias (CEREDA, 1987).

2.2 PROCESSO FERMENTATIVO DE AMIDO DE MANDIOCA PELOS MÉTODOS TRADICIONAL E COM ADIÇÃO DE GLICOSE

A fermentação foi conduzida por dois métodos: tradicional e modificado (MARCON et al., 2006), entre os meses de novembro de 2011 e fevereiro de 2012, na Usina de Processamento de Alimentos do CAL/CCA/UFSC em dez tanques de polietileno de alta densidade com capacidade para 20 litros. A cada tanque foi adicionado 10 litros de água da rede de abastecimento local e 2,5 kg do amido comercial, proporção de 1:4 (p/v) (amido:água), resultando em uma fermentação com água em excesso (MARCON et al., 2006), comparativamente ao que ocorre na prática industrial. Em metade dos tanques (cinco tanques), foi adicionado ainda 0,5 g 100mL⁻¹ de xarope comercial de glicose de milho (Mix, São Paulo, Brasil) sobre o volume da suspensão de amido no início do processo (Figura 1).

O processo fermentativo foi acompanhado diariamente com coletas da água sobrenadante para determinação do pH, da acidez total titulável, dos sólidos totais (analisados a cada 5 dias) e das temperaturas dos tanques e do ambiente. Quando a água de fermentação atingiu o platô de acidez de 2,0 mL de NaOH 0,1 mol L⁻¹/10mL de amostra (MARCON et al., 2006) (19 e 32 dias para as fermentações modificada e tradicional, respectivamente) foi realizada a primeira coleta das águas, que se repetiu a cada 15 dias, até a fermentação completar mais 60 dias após o platô da acidez (tempo comumente empregado pelas polvilharias do sul do Brasil para a retirada do amido fermentado dos tanques, 60 a 90 dias).

O processo fermentativo foi acompanhado também por observações sobre o comportamento das amostras quanto ao aparecimento de espuma, bolhas e bolores.

Após este período a água do processo fermentativo foi drenada e os polvilhos azedos foram secos ao sol, sobre superfícies plásticas devidamente identificadas (CEREDA et al., 1995; DEMIATE et al., 1999, 2000; AMPE et al., 2001; GUYOT; MORLON-GUYOT, 2001), e todas as alíquotas das águas foram congeladas em bandejas circulares de aço inoxidável em congelador de placas e armazenadas em freezer a -18 °C até o momento das análises.

As amostras de amido fermentado foram removidas e secas ao sol. O processo de secagem teve a duração média de três dias, e para que a massa do polvilho fosse considerada seca foi utilizado o parâmetro dos produtores que é o de pressionar a massa na mão e perceber a não formação de aglomerado. Após este período os polvilhos foram moídos em moinho de facas (marca Quimis, modelo Q298A21, Diadema, Brasil), acondicionados em sacos de polietileno de baixa densidade, devidamente identificados e colocados em recipientes fechados.

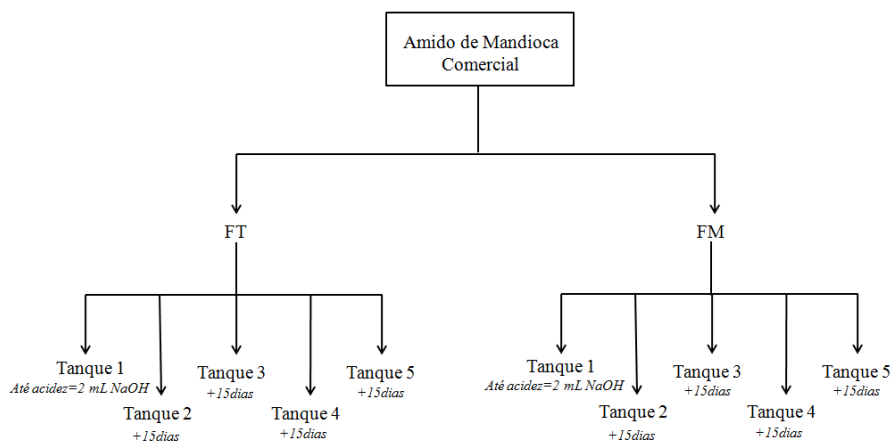
Figura 1 - Fermentação de amido de mandioca conduzida em condições laboratoriais.



Fonte: Acervo do autor.

O fluxograma apresentado na Figura 2 ilustra o procedimento adotado para a obtenção das águas de fermentação de amido de mandioca.

Figura 2 - Fluxograma dos procedimentos para obtenção/coleta das amostras de água de fermentação de amido de mandioca.



FT: fermentação tradicional (água e amido).

FM: fermentação modificada com adição de 0,5% de xarope de glicose.

Fonte: Acervo do autor.

2.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

2.3.1 Sólidos totais

As diferentes alíquotas removidas periodicamente dos tanques de fermentação foram avaliadas quanto ao teor de sólidos totais, por gravimetria. Amostras das águas coletadas dos tanques de fermentação foram homogeneizadas e retiradas alíquotas de 10 mL em uma placa de Petri previamente seca e tarada. As amostras foram evaporadas em estufa com circulação marca Fabbe, São Paulo, a 60 °C até peso

constante. O percentual de sólidos totais foi determinado em função do volume da alíquota empregado.

2.3.2 pH e temperatura do tanque de fermentação e do ambiente

O pH e a temperatura dos tanques e do ambiente, foram determinados diretamente na água de fermentação, utilizando o potenciômetro (marca Quimis, modelo Q400A, Diadema, Brasil) e um termômetro.

2.3.3 Acidez total titulável (ATT)

Determinada através do método da AOAC (2005). O resultado foi calculado pelo volume (mL) gastos de NaOH 0,1 mol L⁻¹ na titulação de 10 mL de amostra de água sobrenadante x fator de correção da solução de NaOH.

2.3.4 Avaliações do polvilho azedo obtido pelo método de fermentação tradicional e com glicose

Para proceder as análises com o polvilho azedo, a fim de avaliar o efeito do processo fermentativo sobre as características do produto, foram confeccionados biscoitos através da formulação proposta por Nunes e Cereda (1994), onde se misturou 50 g de polvilho azedo com 40 mL de água fervente. A massa foi modelada em 5 biscoitos redondos de aproximadamente 10 g cada, os quais foram distribuídos em assadeira e levados ao forno elétrico termostatizado a temperatura de 200 °C, por 25 minutos.

O índice de expansão foi determinado através do método proposto pelo CERAT - Centro de Raízes Tropicais (MAEDA; CEREDA, 2001). Onde o diâmetro médio dos biscoitos foi medido com paquímetro digital (marca Lee Tools, China) antes e após o forneamento.

Os biscoitos depois de assados e resfriados foram pesados e avaliados pelo método de deslocamento de sementes de painço em copo de Becker, sendo as sementes deslocadas medidas em proveta. O resultado da razão entre o valor das sementes deslocadas e o peso dos biscoitos após o forneamento foi expresso em volume específico (mL g^{-1}) (PIZZINATTO; CAMPAGNOLLI, 1993).

O volume específico das amostras foi comparado aos parâmetros de expansão estabelecidos por Nunes e Cereda (1994) para classificar a expansão do polvilho azedo em pequena ($\leq 5 \text{ mL g}^{-1}$), média (de 5 a 10 mL g^{-1}) e grande ($\geq 10 \text{ mL g}^{-1}$).

O resultado da razão entre o peso dos biscoitos após o forneamento e o valor do deslocamento das sementes foi expresso em densidade específica (g mL^{-1}).

Para a comparação dos resultados, as análises de índice de expansão, volume específico e densidade específica também foram realizadas para uma amostra de amido de mandioca e uma de polvilho azedo, ambas comerciais.

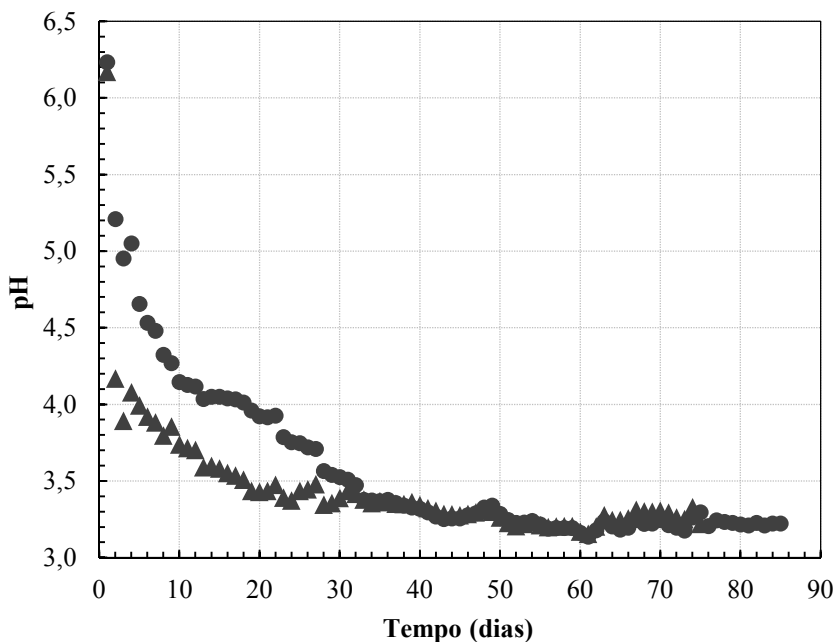
2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todas as análises foram realizadas em triplicata ($n=3$) e os resultados expressos como média e desvio padrão. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias de Tukey, sendo utilizado como critério mínimo o nível de significância de 5% ($p<0,05$). Todo tratamento estatístico dos dados foi realizado utilizando o software Statistica 7.0 (STATSOFT, 2004). Os resultados foram apresentados em gráficos para representar a tendência dos parâmetros avaliados diariamente durante o processo fermentativo e, em tabelas para comparação entre os diferentes tempos de coleta da água sobrenadante e métodos de fermentação.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a tendência do comportamento da fermentação de amido de mandioca apresentada na Figura 3, observa-se uma intensa redução do pH da água sobrenadante dos tanques de fermentação durante os primeiros três dias de fermentação modificada, ocorrendo uma queda do pH de 5,68 para 3,89, enquanto que no processo fermentativo tradicional esse comportamento só foi observado em vinte dias. Após esses períodos, as variações foram menos intensas até atingir uma estabilização, em torno do 20º dia para a fermentação modificada e do 32º dia para a tradicional.

Figura 3 - Variação do pH da água sobrenadante em função do tempo de fermentação do polvilho azedo pelos métodos tradicional (●) e modificado (▲) a partir de amido de mandioca comercial.



Esse comportamento do pH foi verificado por outros autores como Cereda e Lima (1981); Cereda e Giaf-Levra (1987); Ascheri e Vilela (1995); Carvalho et al. (1996); Pereira et al. (1999), segundo os quais a queda do pH ocorre em função da formação de compostos aromáticos e, principalmente, ácidos orgânicos.

Cadena et al. (2006) realizaram um estudo de avaliação da agroindústria de amido de mandioca em cinco plantas de processamento em Córdoba e Sucre, regiões produtoras de polvilho azedo na Colômbia. Os autores observaram, assim como no presente trabalho, que o pH da água sobrenadante, na maioria das plantas analisadas diminuiu em decorrência do aumento da acidez. Eles ainda afirmaram que como a fermentação é realizada em tanques abertos é possível que estes valores não reflitam o que acontece na camada de amido, uma vez que a água é exposta à atmosfera, tornando susceptível a contaminação por micro-organismos que pode aumentar ou diminuir esses valores, mas somente na superfície dos tanques de fermentação.

No final do processo fermentativo, para ambos os tratamentos, o pH foi de 3,22, valor esse que também foi observado por Marcon (2004) ao avaliar o efeito de três diferentes concentrações de glicose (0,10; 0,25 e 0,50%) sobre a fermentação de amidos de mandioca de três regiões do estado de Santa Catarina. No entanto, as reduções de pH no início do processo fermentativo foram mais intensas do que as observadas no presente trabalho, pois estas ocorreram nos quatro primeiros dias e o pH estabilizou entre o décimo e o décimo terceiro dia de fermentação. Uma justificativa para esse fato seria a origem do amido, essa característica influencia diretamente na fermentação, enquanto que neste trabalho foi utilizado um amido de origem comercial, Marcon (2004) utilizou amidos de diferentes regiões polvilheiras de Santa Catarina, os quais também apresentaram diferentes comportamentos entre si.

Na Tabela 1 encontram-se os valores de pH das águas de fermentação coletadas ao atingir a acidez de 2,0 mL de NaOH 0,1 mol L⁻¹/10 mL de amostra (19 e 32 dias para as fermentações modificada e

tradicional, respectivamente) e nas coletas seguintes (a cada 15 dias, aproximadamente). Observa-se que, para os dois métodos fermentativos, há uma diferença significativa ($p < 0,05$) dos pHs entre a primeira e a última coleta, com uma redução média de 0,24 nesse parâmetro. No entanto, no final do experimento, não foi verificada diferença nesse parâmetro entre os dois métodos de fermentação (3,22). Avancini (2007) também acompanhou a fermentação de amidos de mandioca de diferentes origens e em diferentes épocas do ano e verificou uma variação de pH entre 3,0 e 3,7.

Tabela 1 - Valores de pH da água sobrenadante em relação ao tempo e ao método durante a fermentação do polvilho azedo pelos métodos tradicional e modificado a partir de amido de mandioca comercial.

Coleta	Método de fermentação	Tempo (dias)	pH	Método de fermentação	Tempo (dias)	pH
1	Tradicional	32	$3,47 \pm 0,05^{aA}$	Modificado	19	$3,44 \pm 0,02^{aA}$
2		46	$3,28 \pm 0,02^{bB}$		33	$3,38 \pm 0,03^{bA}$
3		61	$3,14 \pm 0,01^{cB}$		48	$3,31 \pm 0,02^{cA}$
4		74	$3,26 \pm 0,01^{bA}$		62	$3,20 \pm 0,01^{dB}$
5		85	$3,22 \pm 0,01^{bA}$		75	$3,22 \pm 0,00^{dA}$

*Média \pm Desvio Padrão.

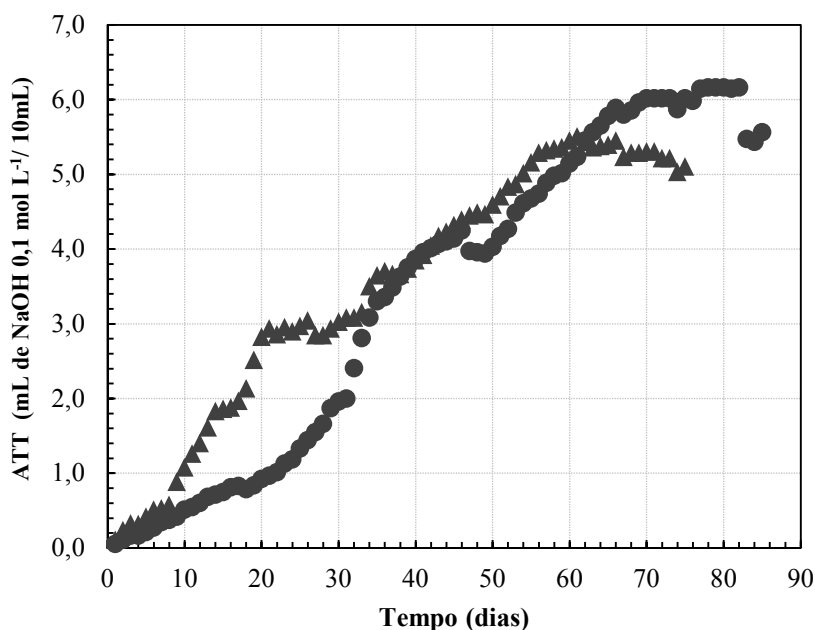
**Letras minúsculas comparam médias, na mesma coluna, entre os diferentes tempos para o mesmo método de fermentação, e maiúsculas, na mesma linha, para diferentes métodos de fermentação no mesmo tempo de coleta da água sobrenadante. Letras diferentes diferem significativamente ($p < 0,05$), de acordo com o teste de Tukey.

A redução do pH observada na fermentação é atribuída à geração de ácidos orgânicos, uma vez que o processo de produção do polvilho azedo envolve três etapas segundo Cereda (1973) citado por Demiate et al. (1999): na primeira fase, os micro-organismos responsáveis por estabelecer condições favoráveis à fermentação incluem *Achromobacter*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Bacillus* e *Clostridium*; na segunda fase, aparecem os micro-

organismos acidogênicos mais exigentes nutricionalmente (microaerófilos, facultativos ou anaeróbios estritos); e na terceira fase, aparecem os micro-organismos saprófitas e contaminantes como *Bacillus* e alguns fungos, e nesta etapa, ocorre a formação de compostos responsáveis pelo aroma e sabor do polvilho.

O comportamento da acidez (Figura 4), segue a tendência natural da redução do pH. Observa-se um aumento da acidez durante as fermentações, o que está de acordo com vários trabalhos (CÁRDENAS; BUCKLE, 1980; CEREDA; LIMA, 1981; ASCHERI; VILELA, 1995; CARVALHO et al., 1996; DEMIATE et al., 1999; PEREIRA et al., 1999).

Figura 4 - Variação da acidez total titulável (ATT) da água sobrenadante em função do tempo de fermentação do polvilho azedo pelos métodos tradicional (●) e modificado (▲) a partir de amido de mandioca comercial.



Conforme Cereda e Lima (1981) é difícil estabelecer o período necessário para que a fermentação se complete. Alguns autores fixaram em 20 dias, outros observando o aparecimento de bolhas na água sobrenadante, decorrente da produção de CO₂. Nas fermentações conduzidas por Marcon (2004), e no presente trabalho, bolhas e espumas já apareceram nos primeiros dias de fermentação, sendo que em quatro dias de processo foi observada uma maior intensidade das mesmas nos tanques de fermentação modificada, justamente em decorrência da adição de glicose ao meio, favorecendo a atividade microbiana e a produção de CO₂. Além disso, a fermentação apresentava-se com diferentes níveis de acidez, o que também foi observado por Cereda e Lima (1981). Logo, se a fermentação for interrompida nessa fase serão obtidos polvilhos com diferentes valores de acidez (CEREDA; LIMA, 1981; CEREDA; BONASSI, 1985; DEMIATE et al., 1999).

Alguns trabalhos estabelecem o pH 3,0 ou próximo deste para o final da fermentação. No entanto, o pH não é utilizado como parâmetro para finalização de processo, pois o longo patamar em pH baixo não oferece um valor preciso para o término do processo fermentativo (CEREDA, 1995; DEMIATE, 1999).

Na produção do polvilho azedo, segundo Diniz (2006), é marcante o empirismo na definição do tempo adequado de fermentação. Alguns estudos vêm sendo realizados com o objetivo de reduzir o tempo de fermentação. Nas empresas produtoras de polvilho, o tempo total de fermentação varia em média de 35 a 45 dias; no início da safra esta etapa é mais longa, podendo ser superior a 60 dias. Em nove das doze polvilharias em Minas Gerais que o autor visitou, o tempo de fermentação foi condicionado ao rodízio dos tanques, estipulando um limite entre 20 e 45 dias, as demais utilizam parâmetros como: avaliação do gosto ácido, avaliação do pH do meio e teste de expansão para interromper a fermentação.

Diante dessa falta de padronização, Marcon (2004), com os resultados dos seus estudos, estabeleceu um índice de acidez de 2,0 mL

de NaOH 0,1 mol L⁻¹/10 mL de amostra como padrão para determinar o final da fermentação. Sendo assim, considerando este parâmetro no presente trabalho, a fermentação estaria finalizada em 32 dias pelo método tradicional e em 19 dias pelo método modificado, havendo uma redução considerável no tempo de fermentação de 13 dias (40,6%), decorrente da adição de 0,5% de glicose, como fonte de carbono para o processo fermentativo. Esse resultado está próximo do obtido por Marcon (2004), que verificou que a adição de 0,50% de glicose sobre o leite de amido reduziu o tempo de fermentação em cerca de 50%.

Observa-se na Tabela 2 que não há uma diferença significativa de acidez titulável nos dois últimos tempos de coleta do mesmo método (74 e 85 dias para o tradicional, e 62 e 75 dias para o modificado). Enquanto que, no final de ambos os processos, é verificada uma acidez significativamente maior ($p < 0,05$) para o método tradicional, 5,08 mL de NaOH 0,1 mol L⁻¹/10 mL.

Tabela 2 - Valores de acidez total titulável (ATT) da água sobrenadante em relação ao tempo e ao método durante a fermentação do polvilho azedo pelos métodos tradicional e modificado a partir de amido de mandioca comercial.

Coleta	Método de fermentação	Tempo (dias)	ATT (mL de NaOH 0,1 mol L ⁻¹ /10 mL)	Método de fermentação	Tempo (dias)	ATT (mL de NaOH 0,1 mol L ⁻¹ /10 mL)
1	Tradicional	32	2,20 ± 0,06 ^{dA}	Modificado	19	2,30 ± 0,15 ^{dA}
2		46	3,88 ± 0,05 ^{cA}		33	2,88 ± 0,11 ^{cB}
3		61	4,78 ± 0,17 ^{bA}		48	4,10 ± 0,33 ^{bB}
4		74	5,37 ± 0,03 ^{aA}		62	4,97 ± 0,03 ^{aB}
5		85	5,08 ± 0,03 ^{abA}		75	4,67 ± 0,03 ^{aB}

*Média ± Desvio Padrão.

**Letras minúsculas comparam médias, na mesma coluna, entre os diferentes tempos para o mesmo método de fermentação, e maiúsculas, na mesma linha, para diferentes métodos de fermentação no mesmo tempo de coleta da água sobrenadante. Letras diferentes diferem significativamente ($p < 0,05$), de acordo com o teste de Tukey.

O aumento da acidez durante a fermentação é atribuída a formação de ácidos orgânicos, pelo consumo de açúcares inicialmente presentes no meio fermentativo e pela degradação parcial do amido em carboidratos facilmente assimiláveis por micro-organismos amilolíticos, esse comportamento foi observado por Cereda et al. *apud* Cereda e Gaj-Levra (1987), que identificaram, através de cromatografia, açúcares presentes no líquido sobrenadante ao longo do processo fermentativo.

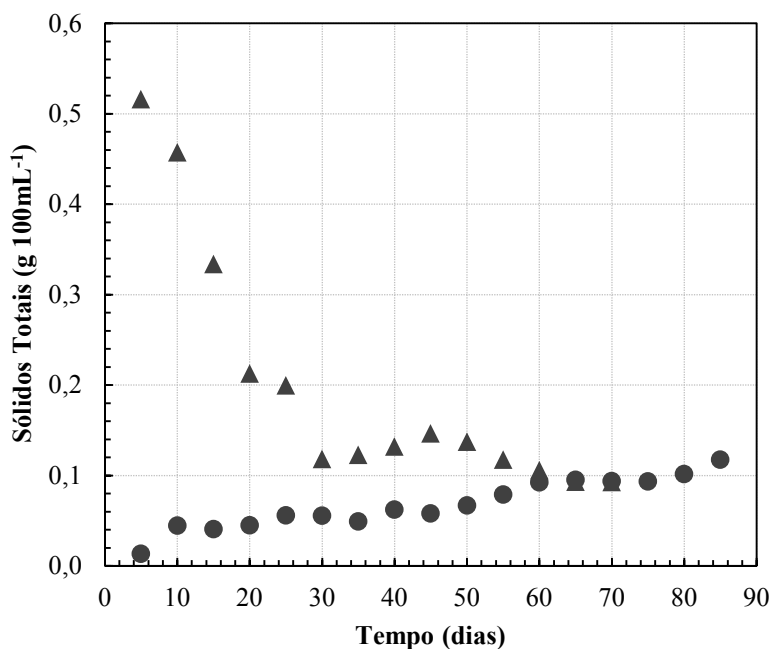
Os valores de acidez titulável são muito variáveis, isto se deve ao fato não somente do teor de ácidos formados, mas devido também à natureza destes ácidos, pois estes variam seu caráter ácido dependendo da cadeia e do número de carboxilas (CEREDA, 1983; CEREDA; BONASSI, 1985). Além do ácido láctico, estão presentes também nessas águas de fermentação outros ácidos como acético, propiônico e butírico (CEREDA; LIMA, 1981; CEREDA; BONASSI, 1985; DEMIATE et al., 1999).

Avancini (2007) encontrou valores de acidez variando de 2,11 a 6,85 mL de NaOH 0,1 mol L⁻¹/10 mL de amostra em processos fermentativos com amidos de diferentes origens e épocas do ano, após 17 e 30 dias de fermentação, respectivamente.

Adicionalmente aos ácidos, a degradação do amido tende a liberar resíduos de amilose e amilopectina com diferentes massas moleculares, bem como compostos provenientes das células microbianas envolvidas no processo fermentativo, que perfazem os sólidos totais presentes nas águas da fermentação do amido de mandioca.

Observa-se que há uma maior concentração inicial de sólidos totais na fermentação modificada; mas isso se deve à adição de 0,5% de glicose realizada no início desse processo, no entanto, ao longo do processo, a glicose vai sendo utilizada como substrato pelos micro-organismos e há uma redução até estabilizar em torno do 30º dia (Figura 5). No processo tradicional é possível verificar um leve aumento dos sólidos totais, atingindo valores muito baixos (< 0,1 g 100mL⁻¹).

Figura 5 - Variação dos sólidos totais da água sobrenadante em função do tempo de fermentação do polvilho azedo pelos métodos tradicional (●) e modificado (▲) a partir de amido de mandioca comercial.



De acordo com os dados observados na Tabela 3, os sólidos totais apresentaram variações significativas somente até o terceiro tempo de coleta para os dois métodos (61^o e 48^o dia, tradicional e modificado, respectivamente), mantendo-se constante até o último dia de fermentação, sendo essa concentração de sólidos totais na fermentação modificada 36% significativamente superior a tradicional.

Avancini (2007) e Avancini et al. (2007) encontraram valores de sólidos totais variando de 0,17 a 0,60 g 100mL⁻¹ e 0,22 g 100mL⁻¹, respectivamente, nas águas de fermentação de amidos de mandioca de diferentes regiões de Santa Catarina e de um *blend* de amidos de mandioca comerciais, ambos fermentados com 0,5% de glicose. Considerando as águas da fermentação do amido de mandioca como um

resíduo industrial, comparativamente às águas resultantes da prensagem da massa ralada de mandioca para produção de farinha (manipueira), que muito diferem das estudadas neste trabalho, os valores encontrados são inferiores aos observados por Lamo e Menezes (1975), 0,58 a 5,65 g 100mL⁻¹.

Tabela 3 - Valores de sólidos totais da água sobrenadante em relação ao tempo e ao método durante a fermentação do polvilho azedo pelos métodos tradicional e modificado a partir de amido de mandioca comercial.

Coleta	Método de fermentação	Tempo (dias)	Sólidos Totais (g 100mL ⁻¹)	Método de fermentação	Tempo (dias)	Sólidos Totais (g 100mL ⁻¹)
1		32	0,04 ± 0,01 ^{cB}		19	0,21 ± 0,00 ^{aA}
2		46	0,06 ± 0,01 ^{bB}		33	0,16 ± 0,01 ^{bA}
3	Tradicional	61	0,08 ± 0,00 ^{aB}	Modificado	48	0,12 ± 0,01 ^{cA}
4		74	0,07 ± 0,00 ^{aB}		62	0,12 ± 0,01 ^{cA}
5		85	0,09 ± 0,01 ^{aB}		75	0,11 ± 0,00 ^{cA}

*Média ± Desvio Padrão.

**Letras minúsculas comparam médias, na mesma coluna, entre os diferentes tempos para o mesmo método de fermentação, e maiúsculas, na mesma linha, para diferentes métodos de fermentação no mesmo tempo de coleta da água sobrenadante. Letras diferentes diferem significativamente ($p < 0,05$), de acordo com o teste de Tukey.

As temperaturas médias do ambiente e dos tanques durante a fermentação foram respectivamente: 26,0 ± 3,4 °C (mínima: 21,3 °C e máxima: 35,2 °C) e 25,0 ± 2,8 °C (mínima: 20,0 °C e máxima: 34,0 °C). Trabalhos sobre fermentação do polvilho azedo realizados nas regiões mais quentes indicam o tempo de 20 dias para o final da fermentação, na região sul este processo pode se prolongar, atingindo até 90 dias (MARCON, 2004).

O índice de expansão do biscoito constitui um parâmetro importante para a verificação da qualidade do processo fermentativo (RIVERA, 1997). Segundo Ascheri e Vilela (1995) biscoitos de melhor

qualidade são aqueles que apresentam maior expansão e menor densidade.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 4, todos os biscoitos produzidos com as amostras de polvilho azedo apresentaram índices de expansão superiores ao do produzido com amido comercial, resultado este já esperado em decorrência do incremento promovido pelo processo fermentativo.

Tabela 4 - Índice de expansão de biscoitos produzidos com polvilhos azedos obtidos através de métodos de fermentação tradicional e modificado.

Coleta	Método de fermentação	Tempo (dias)	Índice de expansão	Método de fermentação	Tempo (dias)	Índice de expansão
1	Tradicional	32	1,62 ± 0,08 ^{bA}	Modificado	19	1,73 ± 0,15 ^{abA}
2		46	1,64 ± 0,10 ^{bB}		33	1,86 ± 0,03 ^{aA}
3		61	1,57 ± 0,08 ^{bA}		48	1,64± 0,03 ^{bA}
4		74	1,65 ± 0,06 ^{bA}		62	1,73 ± 0,05 ^{abA}
5		85	1,85 ± 0,04 ^{aA}		75	1,73 ± 0,07 ^{abB}
Amido comercial			1,17 ± 0,04 ^c	1,17 ± 0,04 ^c		
Polvilho azedo comercial			1,67 ± 0,12 ^b	1,67 ± 0,12 ^b		

*Média \pm Desvio Padrão.

**Letras minúsculas comparam médias, na mesma coluna, entre os diferentes tempos para o mesmo método de fermentação, e maiúsculas, na mesma linha, para diferentes métodos de fermentação no mesmo tempo de coleta do amido fermentado. Letras diferentes diferem significativamente ($p < 0,05$), de acordo com o teste de Tukey.

É possível observar que na primeira coleta do polvilho azedo obtido pelo método tradicional (32 dias) o índice de expansão não se diferenciou estatisticamente da amostra de polvilho azedo comercial, permanecendo assim até o 74º dia de fermentação, mas no final do processo apresentou um índice de expansão superior (1,85). Em relação ao método modificado, o maior índice de expansão foi verificado no segundo tempo de coleta, com 33 dias de fermentação, sendo esse valor superior ao do polvilho azedo comercial.

Há uma relação inversa entre a propriedade de expansão do amido fermentado com o pH, a acidez e a degradação dos grânulos. O que é esperado já que ao longo do processo fermentativo as enzimas dos micro-organismos degradam a molécula de amido, liberando as moléculas de glicose susceptíveis a conversão por outros micro-organismos em ácido láctico e outros ácidos orgânicos secundários nesta fermentação, provocando uma redução do valor de pH e um aumento da acidez. Adicionalmente a solubilidade do amido aumenta durante a fermentação, o tornando mais expansível (CADENA et al., 2006).

Em relação aos métodos de fermentação, o índice de expansão da amostra do método modificado no primeiro tempo de coleta (19 dias) foi estatisticamente igual ao observado no tradicional (32 dias). Pereira et al. (1999) avaliando amidos fermentados de fontes vegetais alternativas verificaram índices de expansão variando entre 0,88 e 1,99, para batata inglesa e polvilho azedo comercial, respectivamente. Enquanto que Ascheri e Vilela (1995) apresentaram índices de expansão superiores em fermentações conduzidas em tanque experimental (2,24-3,49), em copo Becker, em bancada (1,80-3,34) e tanque industrial (1,80-3,69).

Ascheri e Vilela (1995) constataram diversas alterações nas características do polvilho azedo e dos biscoitos elaborados com este, em função do tempo de fermentação. Eles comprovaram a influência da fermentação nas características de expansão e densidade dos biscoitos elaborados, sendo o ponto ótimo atingido aos 30 dias do processo fermentativo, comportamento semelhante ao observado no processo tradicional do presente estudo.

Pereira et al. (1999) encontraram um maior volume específico para o biscoito elaborado com polvilho azedo comercial (1,99), e o menor com o amido fermentado de batata inglesa (0,88). A expansão estabelece uma relação positiva com o volume e uma relação negativa com a densidade, logo o melhor resultado, de acordo com as Tabelas 5 e 6, foi o verificado para o polvilho fermentado pelo método modificado no segundo tempo de coleta, 33 dias, o qual apresentou o maior volume

específico, $7,66 \text{ mL g}^{-1}$, e a menor densidade específica, $0,13 \text{ mL g}^{-1}$. No entanto, as amostras de ambos os processos no primeiro tempo de coleta, já apresentavam propriedades semelhantes ou até mesmo superiores às do polvilho azedo comercial. Ascheri e Vilela (1995) concluíram que alterações físico-químicas e reológicas, no polvilho azedo, podem gerar mudanças desejáveis na produção de biscoitos, observadas por eles pelo aumento de expansão e diminuição de densidade, até o 30º dia de fermentação.

Comparando os resultados de volume específico das amostras com os índices de expansão estabelecidos por Nunes e Cereda (1994) para classificar a expansão do polvilho azedo em pequena ($\leq 5,0 \text{ mL g}^{-1}$), média (de $5,0$ a 10 mL g^{-1}) e grande ($\geq 10,0 \text{ mL g}^{-1}$), todos os polvilhos azedos, inclusive o comercial, apresentaram expansão pequena, exceto aqueles com 33 e 85 dias de fermentação modificada e tradicional, respectivamente, que apresentaram volume específico entre 5 e 10 mL g^{-1} sendo classificados como de expansões médias.

Tabela 5 - Volume específico de biscoitos produzidos com polvilhos azedos obtidos através de métodos de fermentação tradicional e modificado.

Coleta	Método de fermentação	Tempo (dias)	Volume específico (mL g^{-1})	Método de fermentação	Tempo (dias)	Volume específico (mL g^{-1})
1		32	$4,75 \pm 0,30^{\text{bA}}$		19	$5,17 \pm 0,46^{\text{bA}}$
2		46	$3,71 \pm 0,91^{\text{bcB}}$		33	$7,66 \pm 0,41^{\text{aA}}$
3	Tradicional	61	$3,18 \pm 0,61^{\text{cdA}}$	Modificado	48	$3,44 \pm 0,27^{\text{cA}}$
4		74	$4,65 \pm 0,44^{\text{bA}}$		62	$3,19 \pm 0,33^{\text{cB}}$
5		85	$6,53 \pm 0,59^{\text{aA}}$		75	$3,29 \pm 0,09^{\text{cB}}$
Amido comercial			$2,53 \pm 0,13^{\text{d}}$			
Polvilho azedo comercial			$3,48 \pm 0,12^{\text{cd}}$			

*Média \pm Desvio Padrão.

**Letras minúsculas comparam médias, na mesma coluna, entre os diferentes tempos para o mesmo método de fermentação, e maiúsculas, na mesma linha, para diferentes métodos de fermentação no mesmo tempo de coleta do amido fermentado. Letras diferentes diferem significativamente ($p < 0,05$), de acordo com o teste de Tukey.

Dias et al. (2007) analisando amostras de polvilho azedo, obtidas em laboratório, ao longo de 50 dias de fermentação e secas ao sol, também não verificaram boa propriedade de expansão (volume específico entre 3,67 a 7,22 mL g⁻¹), indicando que o processo fermentativo foi deficiente, não promovendo uma modificação química-enzimática adequada, o que foi justificado pelos baixos valores de acidez, segundo os autores.

Tabela 6 - Densidade específica de biscoitos produzidos com polvilhos azedos obtidos através de métodos de fermentação tradicional e modificado.

Coleta	Método de fermentação	Tempo (dias)	Densidade específica (g mL ⁻¹)	Método de fermentação	Tempo (dias)	Densidade específica (g mL ⁻¹)
1	Tradicional	32	0,21 ± 0,01 ^{cbA}	Modificado	19	0,24 ± 0,02 ^{dA}
2		46	0,28 ± 0,06 ^{bcA}		33	0,13 ± 0,01 ^{eB}
3		61	0,32 ± 0,06 ^{bA}		48	0,29 ± 0,02 ^{cA}
4		74	0,23 ± 0,02 ^{cdB}		62	0,34 ± 0,02 ^{bA}
5		85	0,15 ± 0,01 ^{dB}		75	0,33 ± 0,03 ^{bA}
Amido comercial			0,40 ± 0,02 ^a	0,40 ± 0,02 ^a		
Polvilho azedo comercial			0,29 ± 0,01 ^b	0,29 ± 0,01 ^d		

*Média ± Desvio Padrão.

**Letras minúsculas comparam médias, na mesma coluna, entre os diferentes tempos para o mesmo método de fermentação, e maiúsculas, na mesma linha, para diferentes métodos de fermentação no mesmo tempo de coleta do amido fermentado. Letras diferentes diferem significativamente (p<0,05), de acordo com o teste de Tukey.

4 CONCLUSÃO

A adição de glicose reduziu o tempo do processo fermentativo em 40,6% (13 dias), e o polvilho azedo obtido pelo método modificado apresentou, em apenas 19 dias de fermentação, propriedades de expansão semelhantes ou até mesmo melhores que as do polvilho azedo comercial analisado.

A definição do tempo de fermentação através da determinação da acidez titulável e do pH e do volume específico pode contribuir tanto para a retirada do amido fermentado quanto para futuras aplicações das águas da fermentação como matéria prima para novos produtos, uma vez que quando o amido é retirado dos tanques para a secagem, as águas residuais com alta acidez são consideradas como efluentes na indústria produtora de polvilho azedo.

A caracterização dos produtos da fermentação é muito importante para o melhor entendimento dos principais problemas relacionados aos processos de produção e à potencialidade do uso do polvilho azedo. O controle dos parâmetros de processo poderá assegurar teores regulares de compostos de interesse nas águas residuais, bem como maior homogeneidade dos produtos elaborados a partir do polvilho azedo.

REFERÊNCIAS

- AMPE, F.; SIRVENT, A.; ZAKHIA, N. Dynamics of the microbial community responsible for traditional sour cassava starch fermentation studied by denaturing gradient gel electrophoresis and quantitative rRNA hybridization. **International Journal of Food Microbiology**, v.65, p.45-54. 2001.
- AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 18.ed. Gaithersburg, Maryland, 2005.
- APLEVICZ, K.S., DEMIATE, I.M. Characterization of native and modified cassava starches and their use in baked products. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.3, p.478-484, 2007.
- ASCHERI, D. P. R; VILELA, E. R. Alterações do polvilho de mandioca pela fermentação no fabrico de biscoitos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 269-279, 1995.
- ASQUIERI, E. R. **Efeito da fermentação nas características da fécula de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) de três cultivares colhidas**

em diferentes épocas. Lavras, 1990. 105p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos), Escola Superior de Agricultura de Lavras (ESAL). Lavras, 1990.

AVANCINI, S. R. P. **Caracterização físico-química, microbiológica e toxicológica das águas de fermentação do amido de mandioca na produção do polvilho azedo.** 2007, 104 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2007.

AVANCINI, S. R. P.; FACCIN, G. L.; TRAMONTE, R.; ROVARIS, A. A.; PODESTA, R.; SOUZA, N. M. A. de; VIEIRA, M. A. ; AMANTE, E. R. Cassava starch fermentation wastewater: characterization and preliminary toxicological studies. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, p. 2273-2278, 2007.

BIAZOTTO, L. M.; AMBONI, R. D. de M. C.; REGINATTO, V.; CASTRO, F. P. de; AVANCINI, S. R.; AMANTE, E. R. Frêshpa: a new non-alcoholic beverage from sour cassava starch fermentation water. **Beverage & Food World**, p. 76 -80, 2010.

CADENA, M. P.; VILLARRAGA, E. C.; LUJÁN, D. E. Evaluacion de la agroindustria del almidon agrio de yuca (*Manihot esculenta Crantz*) em Cordoba y Sucre. **Temas Agrarios**, v. 11, n. 1, p. 43-53, 2006.

CÁRDENAS, O. S.; BUCKLE, T. S. Sour cassava starch production: a preliminary study. **Journal of Food Science**, v. 45, p. 1509-1512, 1980.

CARVALHO, E. P.; CANHOS, V. P.; RIBEIRO, V. E., CARVALHO, H. P. Polvilho Azedo: Aspectos físicos, químicos e microbiológicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 129-137. Brasília. 1996.

CEREDA, M. P. Tecnologia e qualidade do polvilho azedo. **Informe Agropecuário**, v. 13, n. 145, p. 63-68, 1987.

CEREDA, M. P.; GIAJ-LEVRA, L. A. Constatação de bactérias não simbióticas fixadoras de nitrogênio em fermentação natural de fécula de mandioca. **Revista Brasileira da Mandioca**, Cruz das Almas, v. 6, n. 1, p. 29-33, 1987.

CEREDA, M.P.; LIMA, U.A. Aspectos sobre a fermentação da fécula de mandioca. II-Controle das fermentações realizadas em laboratório.

Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 15, p. 107-122. 1981.

CEREDA, M.P.; NUNES, O.L.G.; VILPOUX, O. **Tecnologia da produção de polvilho azedo**. Botucatu. Centro de Raízes Tropicais (CERAT). Universidade Estadual Paulista. 1995.

CEREDA, M.P.; BONASSI, I.A. Avaliação da qualidade da fécula fermentada comercial de mandioca (polvilho azedo). III- Ácidos orgânicos e absorção de água. **Revista Brasileira de Mandioca**. Cruz das Almas, v. 3, n.2, p. 21-30, 1985.

DEMIATE, I.M.; BARANA, A.C.; CEREDA, M.P.; WOSIACKI, G. Organic acid profile of commercial sour cassava starch. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 19, n. 1, 1999.

DEMIATE, I.M.; DUPUY, N.; HUVENNE, J.P.; CEREDA, M.P.; WOSIACKI, G. Relationship between banking behavior of modified cassava starches and starch chemical structure determined by FTIR spectroscopy. **Carbohydrate Polymers**, v.42, p. 149-158, 2000.

DIAS, A. R. G.; ELIAS, M. C.; OLIVEIRA, M.; HELBIG, E. Oxidação dos amidos de mandioca e de milho comum fermentados: desenvolvimento da propriedade de expansão. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 794-799, 2007.

DINIZ, I. P. **Caracterização tecnológica do polvilho azedo produzido em diferentes regiões do estado de Minas Gerais**. 2006. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

GYUOT, J.P.; BRIZUELA, M.A.; SANOJA, R.R.; MORLON-GUYOT, J. Characterization and differentiation of *Lactobacillus manihotivorans* strains isolated from cassava sour starch. **International Journal of Food Microbiology**, v.87, p. 187-192, 2002.

GYUOT, J.P.; MORLON-GUYOT, J. Effect of different cultivation conditions on *Lactobacillus manihotivorans* OND 32^T, an amylolytic lactobacillus isolated from sour starch cassava fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, v.67, p.217-225, 2001.

LAMO, P.R; MENEZES, T. J. B. **Bioconversão das águas residuais do processamento da mandioca para a produção de biomassa**. Coletânea do ITAL, Campinas, v. 10, p. 1-14. 1975.

MAEDA, K. C.; CEREDA, M. P. Avaliação de duas metodologias de expansão ao forno do polvilho azedo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 2, p. 139-143, 2001.

MARCON, M. J. A. **Efeito do processo fermentativo pelo método tradicional e com adição de glicose, sobre a qualidade do polvilho azedo**. 2004, 126 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2004.

MARCON, M. J. A.; KURTZA, D. J.; RAGUZZONI, J. C.; DELGADILLO, I.; MARASCHIN, M.; SOLDI, V.; REGINATTO, V.; AMANTE, E. R. Expansion properties of sour cassava starch (polvilho azedo): variables related to its practical application in bakery. **Starch/Stärke**, v. 61, p. 716-726, 2009.

MARCON, M. J. A.; VIEIRA, G. C. N.; DE SIMAS, K. N.; SANTOS, K.; VIEIRA, M. A.; AMBONI, R. D. M. C.; AMANTE, E. R. Effect of the improved fermentation on physicochemical properties and sensorial acceptability of sour cassava starch. **Brazilian Archives of Biology and Biotechnology**, v. 50, n. 6, p. 1079-1087, 2007.

MARCON, M. J. A.; VIEIRA, M. A.; SANTOS, K.; DE SIMAS, K. N.; AMBONI, R. D. M. C.; AMANTE, E. R. The effect of fermentation on cassava starch microstructure. **Journal of Food Process Engineering**, v. 29, p. 362-372, 2006.

MESTRES, C.; ROUAU, X. Influence of natural fermentation and drying conditions on the physicochemical characteristics of cassava starch. **Journal of Science and Food Agriculture**, v. 74, p.147-155, 1997.

MILLER, G. Use of dinitrosalicilic acid reagent for determination of reducing sugars. **Analytical Chemistry**, v. 31, p. 426-428, 1959.

NUNES, O.L.G.S.; CEREDA M. P. **Metodologia para avaliação da qualidade de fécula fermentada de mandioca (polvilho azedo)**. In: Congresso Brasileiro de Mandioca, Salvador, 1994.

PEREIRA, J. CIACCO; C.F.; VILELA, E.R.; TEXEIRA, L.S. Féculas fermentadas na fabricação de biscoitos: estudo de fontes alternativas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 19, n. 2, p. 287-293, 1999.

PEREIRA, R. G. F. A. **Avaliação da qualidade do polvilho durante a fermentação em diferentes meios, com e sem adição de inóculos**. Lavras, 1994. 73p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura de Lavras (ESAL). Lavras, 1994.

PIZZINATO, A.; CAMPAGNOLLI, D. M. F. **Avaliação tecnológica de produtos derivados de farinhas de trigo (pão, macarrão, biscoito)**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1993. 54 p.

PLATA-OVIEDO, M. **Secagem do amido fermentado de mandioca: modificação química relacionada com a propriedade de expansão e características físico-químicas**. 1998. 114p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Campinas, 1998.

PLATA-OVIEDO, M.; CAMARGO, C. R. O. Determinação de propriedades físico-químicas e funcionais de duas féculas fermentadas de mandioca (polvilho azedo). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 15, n. 1, p. 59-65, 1995.

RIVERA, H. H. P. **Fermentação de Amido de Mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz): avaliação e caracterização do polvilho azedo**. 1997. 131p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa (UFV). Viçosa, 1997.

SANNI, A.I.; MORLON-GUYOT, J.; GUYOT, J.P. New efficient amylose-producing strains of *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus fermentarum* isolated from different Nigerian traditional fermented

foods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 72, p. 53-62, 2002.

SRIROTH, K.; SANTISOPASRI, V.; PETCHALANUWAT, C.; KUROTJANAWONG, K.; PIYACHOMKWAN, K.; OATES, C.G. Cassava starch granule structure-function properties: influence of time and conditions at harvest on four cultivars of cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, v.38, p. 161-170, 1999.

STATSOFT. **Statistica**. Versão 7.0. Tulsa, 2004.

CAPÍTULO 3

Validação de métodos para determinação de ácidos orgânicos por CLAE e EC em águas de fermentação de amido de mandioca

Capítulo publicado em artigo:

AQUINO, A.C.M.S.; AZEVEDO, M.S.; RIBEIRO, D.H.B.; COSTA, A.C.O.; AMANTE, E.R. Validation of HPLC and CE methods for determination of organic acids in sour cassava starch wastewater. **Food Chemistry**, v. 172, p. 725-730, 2015.

Validação de métodos para determinação de ácidos orgânicos por CLAE e EC em águas de fermentação de amido de mandioca

Resumo

Métodos analíticos rápidos e eficientes para determinar as concentrações de ácidos lático, acético, propiônico e butírico em águas de fermentação de amido de mandioca utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de fase reversa e eletroforese capilar (EC), foram desenvolvidos e validados. Foram verificadas boa linearidade ($R^2 > 0,999$) e significâncias com $F > 25.000$ para todos os ácidos analisados. Efeito de matriz não foi observado. Os valores do coeficiente de variação indicaram boa repetibilidade. Os limites de detecção (LOD) variaram de 1,0 a 3,7 e de 2,0 a 3,0, e os limites de quantificação (LOQ) de 3,1 a 12,2 e de 8,0 e 12,5 mg L⁻¹ para a CLAE e EC, respectivamente. A quantificação das amostras não revelou diferenças significativas entre os métodos para os ácidos analisados. No entanto, devem ser levadas em consideração as vantagens da EC em relação à CLAE, como menor custo, menor geração de resíduos e menor tempo de análise (< 2 minutos).

Palavras-chave: Ácidos orgânicos, Cromatografia líquida, Eletroforese capilar, Polvilho azedo, Fermentação, Validação de método

Validation of HPLC and CE methods for determination of organic acids in sour cassava starch wastewater

Abstract

Fast and efficient analytical methods to determine the concentrations of lactic, acetic, propionic and butyric acids in sour cassava starch wastewater using reversed-phase high performance liquid chromatography (HPLC) and capillary electrophoresis (CE) were developed and validated. Good linearity ($R^2 > 0.999$) and significance with $F > 25,000$ for all acids was showed. The matrix effect was not detected. The coefficient of variation values indicated good repeatability. The limits of detection (LOD) ranged from 1.0 to 3.7 and 2.0 to 3.0, and the limits of quantification (LOQ) from 3.1 to 12.2, and 8.0 to 12.5 mg L⁻¹ for HPLC and CE, respectively. The quantification of the samples did not reveal significant differences between the methods for all compounds analyzed. However, the benefits of CE in relation to HPLC, such as lower costs and less waste generation, along with shorter analysis times (< 2 minutes), need to be taken into consideration.

Keywords: Organic acids, Liquid chromatography, Capillary electrophoresis, Sour cassava starch, Fermentation, Method validation

1 INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é largamente utilizada na nutrição humana e animal, como matéria prima para vários produtos industriais, dos quais os mais importantes são a farinha, o amido e o polvilho azedo (AVANCINI et al., 2007). O amido de mandioca, quando submetido a um processo fermentativo natural, variando condições como tempo e local, ou ainda pela ação de enzimas e micro-organismos, promove a formação de ácidos orgânicos, obtendo-se como produto o amido fermentado, comumente conhecido como polvilho azedo.

Durante a fermentação se desenvolve uma variada microbiota, responsável pela produção de enzimas amilolíticas e de ácidos orgânicos que atacam os grânulos do amido (CEREDA, 1987), gerando pequenos danos na superfície dos mesmos, os quais associados às demais etapas do processo, contribuem para as propriedades funcionais do polvilho azedo, como a importante propriedade de expansão durante o fornecimento.

Alguns trabalhos identificaram ácidos orgânicos, como láctico, acético, propiônico e butírico em amostras de polvilho azedo (DEMIATE et al., 1997a; DEMIATE et al., 1997b), e diferenças de qualidade entre as amostras foram observadas em relação à área geográfica dos estudos, o que chamou a atenção para a importância de determinar o perfil desses ácidos orgânicos.

O processo fermentativo, que é do tipo submerso, ocorre normalmente com uma lâmina de 20 cm de água, sendo esta considerada um efluente industrial, havendo a necessidade de sua caracterização. Conforme estudado realizado por Avancini et al. (2007), a água sobrenadante da fermentação de amido de mandioca apresentou baixa toxicidade aguda ($> 5,0 \text{ g kg}^{-1}$ de peso) e a ingestão de diferentes concentrações dessa água durante 28 dias não causou alterações clínicas e hematológicas significativas nos camundongos, mas há poucas referências sobre a composição dos ácidos orgânicos nessas águas.

Alternativas para utilização dos resíduos da indústria de mandioca são necessários para reduzir a poluição ambiental (DAMASCENO et al., 2003) e contribuir também para a geração de novas alternativas de renda para os produtores. Como exemplo, os ácidos produzidos durante a fermentação do amido e que se encontram solubilizados na água sobrenadante, que não são valorizados como produtos, mas sim considerados carga orgânica poluente em um efluente industrial.

A proximidade das indústrias de processamento de amido da mandioca com atividades pecuárias possibilitaria o seu uso, por exemplo, na suplementação da alimentação animal, já que estes ácidos orgânicos quando adicionados na dieta animal têm a capacidade de promover o crescimento em substituição aos antibióticos (GARCIA et al., 2000).

Para a identificação e a quantificação dos ácidos orgânicos em outros produtos fermentados, como os vinhos, e em águas residuais, podem ser citadas técnicas como eletroforese capilar e cromatografia gasosa e líquida (ÁBALOS; BAYONA; PAWLISZYN, 2000; CRUWYS et al., 2002; ESTEVES et al., 2004; DESTANDAU et al., 2005; RIZZON; SGANZERLA, 2007; KRITSUNANKUL; PRAMOTE; JAKMUNEE, 2009; PERES et al., 2009; ZHENG et al., 2009). Como justificam diversos autores, a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é a mais usada na identificação individual destes compostos pela simplicidade, precisão e facilidade de preparação das amostras, envolvendo apenas etapas de diluição e filtração. No entanto, essas características também podem ser observadas na eletroforese capilar (EC).

Este trabalho avaliou e comparou as técnicas de CLAE com fase reversa e de EC, ambas com detecção de arranjo de diodos (DAD), para a determinação de ácidos orgânicos nas águas da fermentação do amido de mandioca, visando contribuir para aplicações futuras dessas águas ainda consideradas resíduos agroindustriais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 AMOSTRAS

Para a quantificação, foram utilizadas amostras de águas de fermentação de amido de mandioca obtidas de processos tradicionais (água + amido de mandioca) e modificados (água + amido de mandioca + xarope de glicose), detalhados no item 2.2 do Capítulo 2, totalizando 10 (dez) amostras.

2.1.1 Preparação de amostras

Inicialmente, na preparação da amostra para a CLAE, foi seguido o procedimento descrito por Zotou, Loukou e Karava (2004) para vinhos e Lamaison (2009) para resíduo de processamento de farinha de mandioca (manipueira), que realizaram extração em fase sólida. No entanto, após vários testes com diferentes tipos de cartuchos (amino quaternário N+, C18 e florisil) e diferentes condicionamentos dos mesmos, não foi verificada uma recuperação satisfatória dos analitos tanto nas soluções de padrão quanto nas amostras de água de fermentação de amido de mandioca.

Diante da inexistência de trabalhos com a determinação de ácidos orgânicos, por cromatografia líquida, de água sobrenadante do processo fermentativo do polvilho azedo, foi verificado que em estudos de determinação desses analitos em amostras de polvilho azedo (DEMIATE et al., 1999), após um procedimento para solubilização dos ácidos em solução de ácido sulfúrico, e em amostras de manipueira (CASSONI, 2008), as mesmas eram apenas filtradas em membranas de 0,22 µm.

Como nas águas de fermentação do amido de mandioca, os ácidos orgânicos já se encontram solubilizados, a amostra foi apenas filtrada em membrana de politetrafluoretileno (PTFE) de 0,22 µm (Allcrom, São Paulo, Brasil) para posterior injeção no cromatógrafo. Antes da injeção no equipamento de EC, além da filtração em

membrana PTFE 0,22 μm , as amostras foram diluídas com solução de padrão interno (9:1, v/v, amostra:PI a 250 mg L^{-1}).

Tanto para a CLAE quanto para a EC, as amostras foram diluídas para quantificação, conforme requerido para atingir a faixa de trabalho do método.

2.2 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

2.2.1 Reagentes e soluções

Os padrões analíticos dos ácidos láctico (pureza 90%) e butírico (pureza $\geq 99,5\%$) foram obtidos da Fluka (Buchs, Suíça). O ácido acético (pureza 99,8%) e o ácido propiônico (pureza $\geq 99,5\%$), ambos foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Metanol, grau HPLC, foi fornecido pela J.T. Baker (Mallinckrodt, Phillipsburg, NJ, EUA), e a água foi purificada em sistema Simplicity (resistividade 18,2 $\text{M}\Omega\text{ cm}$, Millipore, EUA).

Foram preparadas soluções estoque individuais dos ácidos em água purificada na concentração de 3000 mg L^{-1} para todos os ácidos, e em seguida foi preparada uma mistura de 800 mg L^{-1} dos ácidos láctico, acético e propiônico. As soluções intermediárias dos ácidos orgânicos foram obtidas a partir de sucessivas diluições, as quais foram utilizadas posteriormente na obtenção das curvas de calibração (Tabela 1) e na validação do método.

As fases móveis utilizadas foram constituídas por solução de fosfato de potássio monobásico - KH_2PO_4 (Proquimios, Rio de Janeiro, Brasil) 0,02 mol L^{-1} com pH $2,88 \pm 0,02$ ajustado com ácido fosfórico (Nuclear, São Paulo, Brasil) e 2% de metanol para os ácidos láctico, acético e propiônico (ZOTOU; LOUKOU; KARAVA, 2004), e por solução de KH_2PO_4 0,02 mol L^{-1} com pH $2,88 \pm 0,02$ (ajustado com ácido fosfórico) e 40% de metanol para o ácido butírico.

A fase móvel com 2% de metanol foi filtrada em membrana de acetato de celulose de 0,45 μm da Advantec MFS (Tóquio, Japão), e a

com 40% de metanol em membrana em politetrafluoretileno (PTFE) de 0,45µm da Allcrom (São Paulo, Brasil), ambas foram desgaseificadas por 20 minutos em um banho ultrassom (Unique, Maxi Clean 1650A, Indaiatuba, São Paulo, Brasil).

Tabela 1 - Concentrações de ácidos acético, láctico, propiônico e butírico empregadas para a construção das curvas de calibração - CLAE.

Ácidos	[mg L ⁻¹]						
	1	2	3	4	5	6	7
Acético	6,5	12,5	25,0	50,0	100,0	200,0	400,0
Láctico	6,3	12,5	25,0	50,0	100,0	200,0	400,0
Propiônico	12,2	25,0	50,0	100,0	200,0	400,0	-
Butírico	3,1	12,5	25,0	50,0	100,0	200,0	400,0

2.2.2 Sistema de cromatografia líquida

O sistema de cromatografia líquida consistiu em um módulo de separação, equipado com uma bomba quaternária e um desgaseificador (LC-20AT), um injetor automático (SIL-10A) com um loop de 20µL, um detector de arranjo de diodos (SPD-M20A) com faixa de trabalho de comprimento de onda 190-230 nm, controlados por uma estação de trabalho (CBM-20A), com sistema de aquisição de dados LC Solutions software, todos fabricados pela Shimadzu Corporation (Kyoto, Japão). Para fase estacionária foi utilizada uma coluna C18, Hichrom (150 x 4,6 mm, 5µm - Berkshire, UK), sendo o fluxo isocrático de 0,6 mL min⁻¹ para as fases móveis.

Os ácidos foram identificados nas amostras com base nos seus tempos de retenção e pela comparação entre os espectros, na região do ultravioleta, dos compostos nas soluções padrões e dos picos detectados nas amostras. Para a quantificação foi selecionado o comprimento de onda de 220 nm.

2.3 ELETROFORESE CAPILAR

2.3.1 Reagentes e soluções

Os padrões utilizados para o preparo de soluções estoque de ácidos (trifluoracético-padrão interno, acético, lático, propiônico e butírico) e os reagentes utilizados para composição do eletrólito de corrida (ácido benzóico, bis(2-hidroxietil)amino-tris(hidroximetil)metano (BIS-TRIS) e brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB)) foram da marca Sigma-Aldrich Co (St. Louis, MO, EUA). Água ultrapurificada Milli-Q[®] foi utilizada para preparo de soluções e diluição de amostras. A solução estoque de 1000 mg L⁻¹ para o preparo da curva de calibração foi obtida a partir de soluções individuais dos ácidos orgânicos e as concentrações finais de trabalho se encontram na Tabela 2. Essas soluções foram diluídas com solução de padrão interno (9:1, v/v, amostra:PI a 250 mg L⁻¹).

Tabela 2 - Concentrações de ácidos acético, lático, propiônico e butírico empregadas para a construção das curvas de calibração - EC.

Ácidos	[mg L ⁻¹]						
	1	2	3	4	5	6	7
Acético	8,0	12,5	25,0	50,0	100,0	200,0	400,0
Lático	12,5	25,0	50,0	100,0	200,0	400,0	-
Propiônico	8,0	12,5	25,0	50,0	100,0	200,0	400,0
Butírico	10,0	12,5	25,0	50,0	100,0	200,0	400,0

2.3.2 Sistema de eletroforese capilar

Os experimentos foram conduzidos em um sistema de eletroforese capilar (modelo 7100, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EUA), equipado com detector de arranjo de diodos e sistema de refrigeração por circulação de ar. O *software* HP ChemStation, rev A.06.01 foi utilizado para aquisição e tratamento de dados.

O eletrólito de corrida na proporção 20 mmol L⁻¹ de ácido benzóico, 25 mmol L⁻¹ de BIS-TRIS e 0,2 mmol L⁻¹ de CTAB foi preparado por pesagem direta de 24,4 mg de ácido benzóico e 52,4 mg de BIS-TRIS e adição de 200 µL de solução de CTAB 100 mmol L⁻¹ em um volume de 10 mL de solução, resultando em pH 5,8 diretamente, não havendo necessidade de ajuste de pH sendo armazenado sob refrigeração durante o uso.

A separação dos analitos foi realizada com injeção hidrodinâmica, pressão de 50 mbar por 3 segundos, tensão aplicada de 30 kV, com polaridade negativa, detecção realizada no modo indireto com aquisição de sinal a 234 nm (referência a 360 nm para inversão de pico) e pré-condicionamento entre corridas de 60 s. O comprimento do capilar de sílica fundida (Polymicro Technology, Phoenix, Azusa, EUA) utilizado foi de 48,5 cm (efetivo 40 cm) e 50 µm de diâmetro interno a temperatura de 25 °C.

2.4 AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS DE VALIDAÇÃO INTRALABORATORIAL

Foi realizada de acordo com a ANVISA (BRASIL, 2003), sendo os parâmetros considerados: curva analítica e linearidade, efeito matriz, limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ), exatidão (adição de padrão e recuperação) e precisão (repetibilidade).

A amostra de água sobrenadante, utilizada para validação do método, foi proveniente da fermentação natural do amido de mandioca, em temperatura ambiente (oscilando de 21,5 a 31,0 °C) por 32 dias (quando atingiu o platô de acidez de 2,0 mL de NaOH 0,1 mol L⁻¹/10 mL) (MARCON et al., 2006), a qual foi mantida em congelamento até o momento das análises. Devido à impossibilidade de obtenção de amostra isenta de ácidos orgânicos e a alta concentração dos ácidos acético e butírico na amostra, a mesma foi diluída 50 vezes em água ultrapurificada Milli-Q[®] para a validação do método, enquanto que para os ácidos láctico e propiônico a diluição foi de duas vezes.

O efeito matriz, para CLAE e EC, foi verificado pelo método de adição de padrão. Teste F foi realizado para verificar a significância da regressão (DRAPER; SMITH, 1981). As curvas de calibração de branco matriz foram preparadas de acordo com o procedimento utilizado para avaliar a linearidade para a matriz livre de ácidos orgânicos, onde a mesma amostra de água de fermentação utilizada na validação foi diluída cem vezes, sendo esta a amostra branco. Três replicatas independentes foram analisadas aleatoriamente no mesmo dia. Os valores para a inclinação e o intercepto, e os respectivos desvios de ambas as curvas foram calculadas pelo método dos mínimos quadrados ordinários (MMQO). As inclinações e os interceptos obtidos para as curvas de solvente e de branco matriz foram comparados para verificar diferenças significativas aplicando o teste t (ARMITAGE; BERRY, 1994). Os testes de hipóteses foram realizados com nível de $\alpha = 0,05$.

O limite de quantificação (LOQ) foi definido como a menor concentração em que o método apresentasse uma precisão aceitável ($\text{sin}/\text{ruído} \geq 10$). O limite de detecção (LOD) foi considerado como as concentrações mais baixas de ácidos orgânicos, que foram detectáveis em todas as repetições, mas não necessariamente, quantificados e diferenciados de zero ($\text{sin}/\text{ruído} \geq 3$).

A curva analítica ($y = ax + b$) foi construída a partir do limite de quantificação de cada composto, primeiro ponto da curva, e de soluções analíticas nas concentrações de 12,5; 25,0; 50,0; 100,0; 200,0 e 400,0 mg L^{-1} para todos os ácidos, através da média de 3 curvas, resultando em sete níveis de concentração injetados cinco vezes para cada ácido, sendo em seis níveis para o propiônico na CLAE e para o láctico na EC (Tabela 1).

A exatidão foi verificada através da média de sete injeções consecutivas da mistura padrão de ácidos orgânicos para cada nível (20, 100 e 200 mg L^{-1}) e considerando os resultados expressos em termos de quantidade medida dos compostos em relação a quantidade adicionada na matriz e o critério mínimo para o valor referência variando $\pm 20\%$ (BRASIL, 2003).

A precisão foi determinada através da média das sete injeções consecutivas da mistura de padrão de ácidos orgânicos para cada nível (20, 100 e 200 mg L⁻¹) em ambos os métodos, e as respostas foram expressas em termos de coeficiente de variação percentual (CV%). Todas as análises foram realizadas no mesmo dia pelo mesmo operador, utilizando a mesma metodologia e o mesmo equipamento.

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados com o software Statistica versão 7.0 (Statsoft, Inc. EUA). As normalidades dos dados obtidos por CLAE e EC foram verificadas pelo teste *W* de *Shapiro-Wilk* (SHAPIRO; WILK, 1965; ROYSTON, 1983). Um valor de $p \geq 0,05$ indica distribuição normal e um valor de $p < 0,05$ indica distribuição anormal. Nos casos em que houve evidência significativa de não-normalidade, que pode ser atribuída, por exemplo, à assimetria, caudas e *outliers* (GEL et al., 2007), o teste U de Mann-Whitney, não paramétrico, foi utilizado para comparar as diferenças entre grupos independentes de dados obtidos por CLAE e EC, para determinar a significância estatística (MANN; WHITNEY, 1947; BURKE, 2001). Testes não-paramétricos de localização, como o teste de Mann-Whitney, podem ser mais robustos do que o teste t em determinadas distribuições leptocúrticas (BONETT; SEIER, 2002).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

Utilizando como fase móvel solução de KH₂PO₄ 0,02 mol L⁻¹ (pH 2,88±0,02) e 2% de metanol, modo de eluição isocrático com vazão de 0,6 mL min⁻¹ o tempo total de análise cromatográfica foi de 14 minutos para os ácidos láctico, acético e propiônico. Considerando-se que nesta condição o ácido butírico apresentou um tempo de retenção de 40

minutos, foram realizados testes com 10, 15, 25, 40 e 50% de metanol na fase móvel, sendo utilizada então a solução de KH_2PO_4 $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH } 2,88 \pm 0,02$) e 40% de metanol, com a qual o ácido butírico apresentou um tempo de retenção de apenas 6,6 minutos. As fases móveis foram acidificadas ($\text{pH } 2,88 \pm 0,22$) com ácido fosfórico, visto que a adição de ácido à fase móvel causa a supressão da ionização de grupos funcionais ácidos e promove uma interação maior dos compostos com a fase estacionária (CERQUEIRA et al., 2011).

O comprimento de onda para a quantificação dos quatro compostos foi definido após a realização da varredura espectral da região do ultravioleta-visível (190-800 nm) de cada ácido em estudo e do metanol, sendo o comprimento de onda de 220 nm aquele que apresentou a melhor resposta.

Nas Figuras 1 e 2 são apresentados os cromatogramas de cada composto, para a mistura dos padrões 200 mg L^{-1} , para o branco das amostras diluídas e para a amostra diluída com adição dos padrões 200 mg L^{-1} .

Figura 1 - Cromatogramas a 220 nm dos padrões dos ácidos (A) I - láctico, II - acético, III - propiônico e (B) IV - butírico 200 mg L^{-1} .

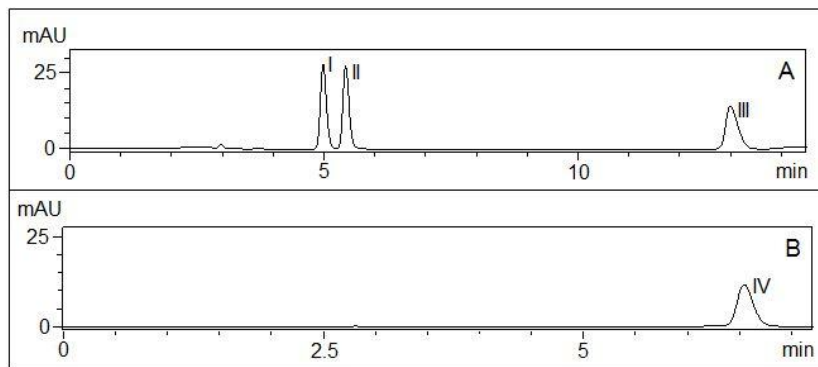
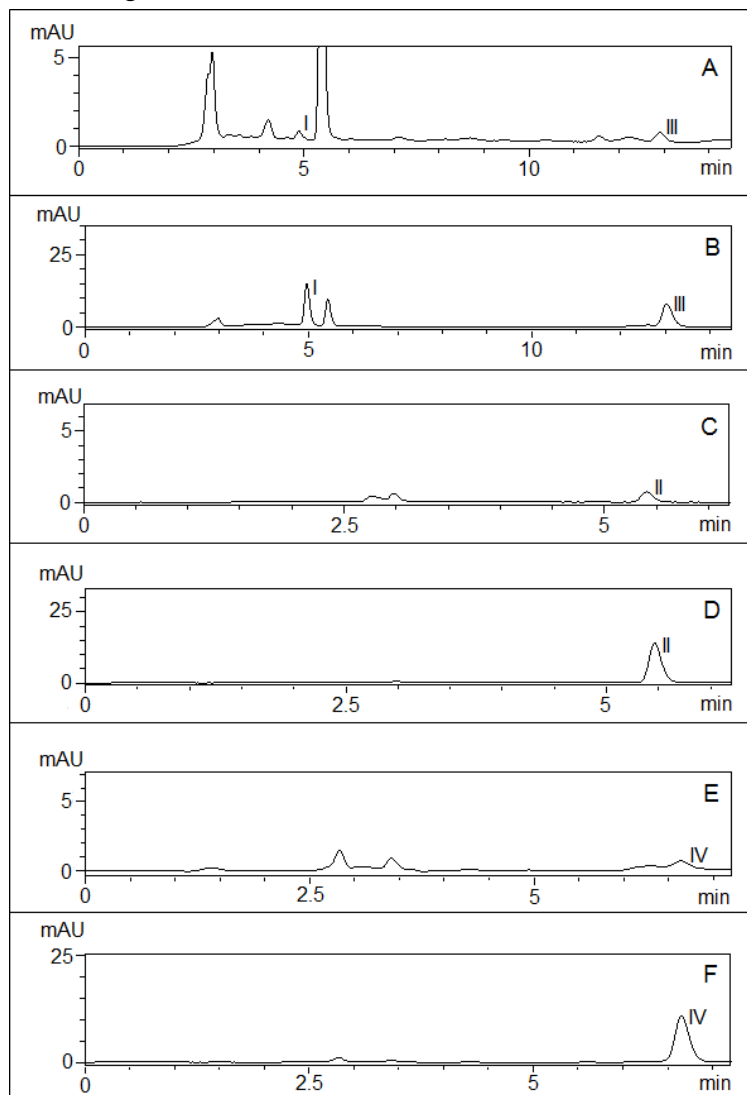


Figura 2 - Cromatogramas a 220 nm (A) dos ácidos I - lático e III - propiônico na amostra diluída duas vezes; (B) dos ácidos I - lático e III - propiônico na amostra, diluída duas vezes, com adição da mistura dos padrões 200 mg L⁻¹; (C) do ácido II - acético na amostra diluída 50 vezes; (D) do ácido II - acético na amostra, diluída 50 vezes, com adição de padrão 200 mg L⁻¹; (E) do ácido IV - butírico na amostra diluída 50 vezes; (F) do ácido IV - butírico na amostra, diluída 50 vezes, com adição de padrão 200 mg L⁻¹.



3.2 ELETROFORESE CAPILAR

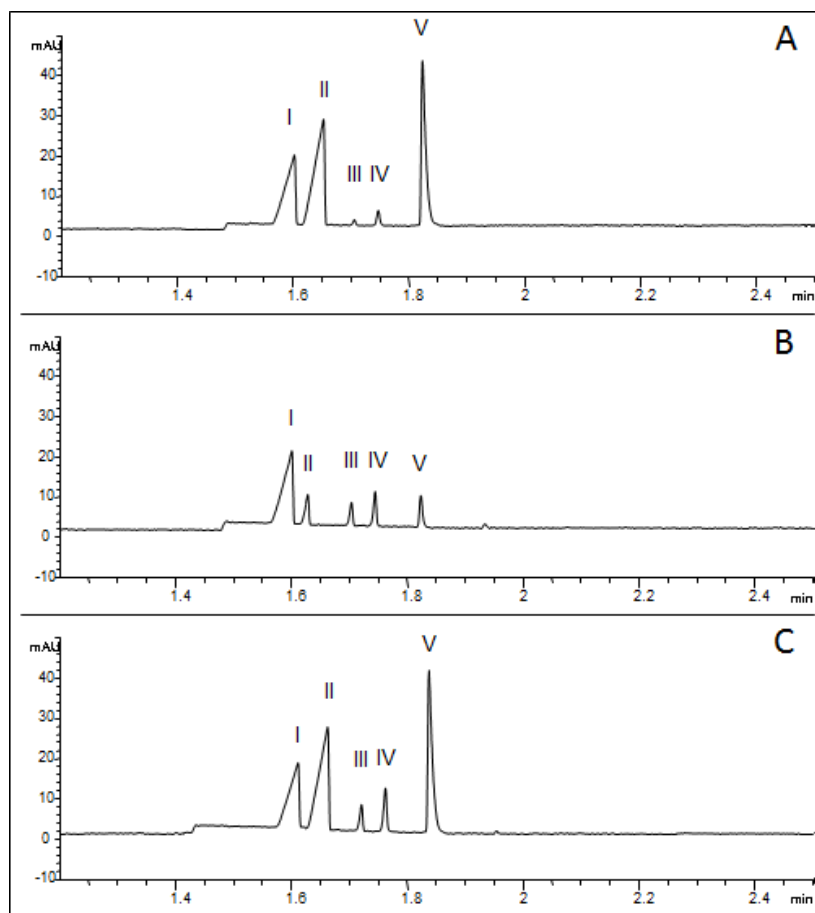
A otimização do BGE (do inglês *background electrolyte*) para o método de quantificação proposto empregando eletroforese capilar de zona (CZE) foi realizada considerando os ácidos orgânicos encontrados nas amostras. Para selecionar as condições ótimas de separação, dados relacionados ao pH, co-íons e contra-íons do BGE, padrão interno e outros parâmetros do sistema de separação foram usadas para gerar curvas de mobilidade efetiva versus pH usando o software Peakmaster®. O pH de 5,8 foi selecionado considerando os analitos ionizados e a diferença na mobilidade necessária para alcançar a separação.

Os componentes do BGE selecionados para proporcionar essa condição de pH foram o ácido benzóico como o co-íon e o BIS-TRIS como contra-íon, com concentrações de 20 e 25 mmol L⁻¹, respectivamente. Esse co-íon foi selecionado porque apresenta grupos cromóforos em sua estrutura, permitindo a detecção indireta de analitos que não absorvem na faixa de UV-Vis. O BIS-TRIS, foi escolhido como contra-íon, uma vez que apresenta pKa de 6,4, um valor próximo ao pH de separação, conferindo assim uma capacidade tamponante adequada para este método. O padrão interno (PI) selecionado foi o ácido trifluoroacético, que tem características semelhantes às dos analitos e não estava presente na matriz da amostra.

Para promover a separação dos ácidos orgânicos em menor tempo possível, CTAB foi utilizado como inversor do fluxo eletrosmótico (EOF). A simulação da separação de ácidos orgânicos foi obtida através do software Peakmaster® e foi observada uma boa similaridade entre os eletroferogramas simulados e experimentais para os padrões, verificando-se que as condições de separação escolhidas foram apropriadas. Os eletroferogramas experimentais para a mistura padrão, para a amostra de água de fermentação de polvilho azedo e para a amostra de água de fermentação de polvilho azedo com adição de

padrão, empregando as condições otimizadas são apresentados na Figura 3.

Figura 3 - Eletroferogramas A. amostra branco diluída duas vezes; B. mistura padrão de ácidos orgânicos a 25 mg L^{-1} ; C. amostra branco diluída duas vezes adicionada de mistura padrão de ácidos orgânicos a 25 mg L^{-1} ; I. ácido trifluoroacético (PI) a 250 mg L^{-1} ; II. ácido acético; III. ácido láctico; IV. ácido propiônico; V. ácido butírico.



3.3 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE VALIDAÇÃO INTRALABORATORIAL

Como pode ser observado na Tabela 3, tanto para a EC quanto para a CLAE, as curvas de calibração apresentaram boa linearidade (coeficiente de determinação - $R^2 > 0,999$) e os modelos lineares mostraram significância com $F > 25.000$ para os ácidos acético, láctico, propiônico e butírico.

Efeito matriz não foi detectado na faixa estudada, uma vez que a não significância ($p \geq 0,05$) foi observada pela comparação dos valores de inclinação e intercepto das curvas solvente e matriz através do teste t , após variações consideradas homogêneas quando comparadas pelo teste F ($p \geq 0,05$). Os métodos apresentaram boa repetibilidade, uma vez que os valores do coeficiente de variação para a repetibilidade variaram entre 0,10 e 1,15%, 0,89 e 4,87% para CLAE e EC, respectivamente. Estes valores foram considerados adequados em ambos os métodos, de acordo com os critérios da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, que estabelece uma precisão de até 5% (BRASIL, 2003).

Os valores de exatidão variaram entre 92,6 e 103,8% para CLAE, enquanto que para EC variaram de 87,9 a 102,9%. Estes valores estão de acordo com os esperados, entre 80 a 120% (BRASIL, 2003). Os valores de LOD foram 1,9 e 3,0 mg L⁻¹ para o ácido láctico, 1,9 e 2,0 mg L⁻¹ para o ácido acético, 3,7 e 3,0 mg L⁻¹ para o ácido propiônico, 1,0 e 3,0 mg L⁻¹ para o ácido butírico, para os métodos de CLAE e EC, respectivamente. Os valores de LOQ foram 6,3 e 12,5 mg L⁻¹ para o ácido láctico, 6,5 e 8,0 mg L⁻¹ para o ácido acético, 12,2 e 8,0 mg L⁻¹ para o ácido propiônico, 3,1 e 10,0 mg L⁻¹ para o ácido butírico, para os métodos de CLAE e EC, respectivamente. Para a aplicabilidade do método, estes valores são adequados, visto que as concentrações de ácidos orgânicos ultrapassaram os mesmos nas amostras analisadas.

Tabela 3 - Performance analítica para os métodos de CLAE e EC.

Parâmetros	n	Ácido láctico		Ácido acético		Ácido propiônico		Ácido butírico	
		CLAE	EC	CLAE	EC	CLAE	EC	CLAE	EC
^a Precisão (CV % a 20 mg L ⁻¹)	7	0,63	3,51	0,57	4,87	1,15	2,66	1,05	2,77
^a Precisão (CV % a 100 mg L ⁻¹)	7	0,28	1,09	0,29	2,89	0,65	0,89	0,38	2,64
^a Precisão (CV % a 200 mg L ⁻¹)	7	0,34	1,39	0,27	2,72	0,41	1,37	0,10	1,91
^b Exatidão (% a 20 mg L ⁻¹)	7	99,89 ± 0,63	95,57 ± 3,35	101,93 ± 0,58	98,42 ± 4,79	103,77 ± 1,20	93,96 ± 2,49	98,22 ± 1,04	102,89 ± 2,85
^b Exatidão (% a 100 mg L ⁻¹)	7	102,32 ± 0,29	97,62 ± 1,06	100,14 ± 0,29	93,15 ± 2,69	102,31 ± 0,67	94,95 ± 0,84	99,24 ± 0,38	97,15 ± 2,57
^b Exatidão (% a 200 mg L ⁻¹)	7	101,47 ± 0,35	99,9 ± 1,39	100,26 ± 0,27	97,27 ± 2,64	97,94 ± 0,41	87,87 ± 1,34	92,64 ± 0,10	101,94 ± 1,95
Linearidade - faixa linear (mg L ⁻¹)		6,3 – 400,0	12,5 – 400,0	6,5 – 400,0	8,0 – 400,0	12,2 – 400,0	8,0 – 400,0	3,10 – 400,0	10,0 – 400,0
Linearidade - inclinação		582,5	0,0041	587,9	0,0069	596,3	0,0063	629,4	0,0059
Linearidade - intercepto		211,4	0,0012	339,7	0,0165	636,5	0,0031	1084,4	0,0008
Linearidade - coeficiente de determinação, R ²		0,9999	0,9995	0,9999	0,9996	0,9999	0,9996	0,9999	0,9995
LOD (mg L ⁻¹)		1,9	3,0	1,9	2,0	3,7	3,0	1,0	3,0
LOQ (mg L ⁻¹)		6,3	12,5	6,5	8,0	12,2	8,0	3,1	10,0
^c F		1,01x10 ⁶	50.864	4,99x10 ⁵	25.007	2,44x10 ⁶	36.103	1,46x10 ⁵	73.809

^a: coeficiente de variação; ^b: média ± desvio padrão; ^c: ANOVA

3.4 ANÁLISE DAS ÁGUAS RESIDUAIS DA FERMENTAÇÃO DE AMIDO DE MANDIOCA

A fim de aplicar os métodos para amostras reais, o teor de ácidos orgânicos foi analisado em águas de fermentação de amido de mandioca, pelos métodos de CLAE e EC e as amostras foram preparadas em triplicata. As concentrações (mg L^{-1}) de ácidos orgânicos encontradas nas amostras por CLAE e EC estão apresentadas na Tabela 4, os resultados variaram de 12,8 a 126,6 mg L^{-1} para o ácido láctico, de 389,9 a 1180,3 mg L^{-1} para o ácido acético, de 57,7 a 202,0 mg L^{-1} para o ácido propiônico e de 359,7 a 1921,8 mg L^{-1} para o ácido butírico pelo método de EC; enquanto que para o método de CLAE os resultados variaram de 16,7 a 124,2 mg L^{-1} para o ácido láctico, de 469,58 a 1336,0 mg L^{-1} para o ácido acético, de 56,7 a 202,0 mg L^{-1} para o ácido propiônico e de 387,3 a 1979,7 mg L^{-1} para o ácido butírico.

A não normalidade dos dados foi verificada pelo teste *W* de Shapiro-Wilk para os ácidos acético, butírico, propiônico e láctico ($p < 0,05$), consequentemente, estes dados foram comparados usando o teste não paramétrico de Mann-Whitney Rank Sum que não mostrou diferença significativa entre os valores encontrados para todos os ácidos analisados pelos dois métodos ($p \geq 0,05$), de acordo com os dados apresentados na Tabela 4.

Verifica-se uma predominância das fermentações acética e butírica em todas as águas de fermentação, diferentemente do que foi observado na maioria dos trabalhos publicados que realizaram o estudo do processo fermentativo do amido, bem como a quantificação de ácidos orgânicos em polvilho azedo (CÁRDENAS; BUCKLE, 1980; CARVALHO et al., 1996; PARADA; FABRIZIO; MARTINEZ, 1996; DEMIATE et al., 1999; SILVEIRA et al., 2003), nos quais se destaca a fermentação láctica.

Uma justificativa seria que o experimento em laboratório foi conduzido no verão de 2011/2012 e foram verificadas temperaturas, do ambiente e dos tanques, de até 35 °C ao longo do processo fermentativo,

em regiões frias a fermentação é mais lenta e a microbiota láctica predomina, enquanto nas regiões quentes, a fermentação é mais rápida e há predomínio da butírica.

Demiato et al. (1999) ao analisarem 29 amostras de amido de mandioca fermentado das regiões Sul e Sudeste adquiridos diretamente das fábricas ou do comércio, verificaram concentrações entre 120 e 830 mg kg⁻¹ de ácido láctico, ND (não detectado) e 680 mg kg⁻¹ de ácido acético, ND e 130 mg kg⁻¹ de ácido propiônico, ND e 570 mg kg⁻¹ de ácido butírico, as quais são inferiores, exceto para o ácido láctico, às encontradas nas águas de fermentação do polvilho azedo das amostras analisadas no presente estudo.

Reginato et al. (2009) realizaram modificações no meio de fermentação do amido, adicionando glicose como fonte de carbono e cloreto de amônio, como fonte de nitrogênio para verificar o efeito sobre a produção de ácidos orgânicos e sobre as características do polvilho azedo. Na fermentação com adição de glicose, as concentrações verificadas nas águas ao longo de 45 dias de processo variaram entre ND e 650 mg L⁻¹ dos ácidos láctico e acético, aproximadamente 200 mg L⁻¹ do ácido propiônico, enquanto que o ácido butírico não foi detectado.

Os resultados apresentados neste trabalho indicam a possibilidade de uso de duas técnicas analíticas na determinação dos ácidos orgânicos produzidos na fermentação do amido de mandioca, ainda inexplorados como novos produtos no setor produtivo do polvilho azedo, que em trabalhos futuros, poderá representar importante ferramenta para definir o destino destas águas. Constituem técnicas simples, rápidas e comprovadamente eficientes para a realização destas análises.

Tabela 4 - ^aConcentração (mg L⁻¹) de ácidos orgânicos em amostras de água de fermentação de amido de mandioca por CLAE e EC, em diferentes tempos de fermentação.

Amostras		Ácido Lático		Ácido Acético		Ácido Propiônico		Ácido Butírico	
Método de fermentação	Tempo (dias)	CLAE	EC	CLAE	EC	CLAE	EC	CLAE	EC
Tradicional	32	16,68 ± 0,41	17,08 ± 0,24	469,58 ± 3,18	398,91 ± 4,17	61,49 ± 2,08	57,67 ± 0,77	387,29 ± 0,82	359,71 ± 3,87
	46	35,81 ± 0,85	32,59 ± 1,67	788,03 ± 1,93	717,92 ± 9,55	56,72 ± 0,57	59,67 ± 0,66	609,69 ± 3,41	677,57 ± 13,30
	61	121,96 ± 0,37	117,73 ± 3,85	1336,03 ± 3,13	1178,32 ± 11,80	74,15 ± 0,30	74,77 ± 0,80	1374,51 ± 5,68	1132,87 ± 11,10
	74	20,50 ± 0,77	21,28 ± 0,80	833,01 ± 0,49	776,60 ± 7,55	121,72 ± 2,59	119,18 ± 2,25	707,46 ± 3,06	617,54 ± 2,45
	85	124,17 ± 0,26	126,55 ± 3,13	1045,75 ± 3,83	1180,32 ± 10,70	67,95 ± 0,25	71,50 ± 1,95	1118,38 ± 12,65	1072,71 ± 10,50
Modificado	19	18,56 ± 0,65	15,70 ± 0,60	634,26 ± 5,58	581,10 ± 10,95	107,71 ± 1,57	111,56 ± 1,76	933,59 ± 1,57	956,09 ± 16,82
	33	15,39 ± 0,31	13,20 ± 2,33	638,91 ± 8,59	601,95 ± 4,89	120,50 ± 2,32	119,71 ± 4,46	947,16 ± 4,39	1118,56 ± 5,87
	48	60,07 ± 0,91	57,23 ± 0,71	1150,06 ± 0,13	1059,38 ± 10,40	153,64 ± 0,28	157,37 ± 1,07	962,98 ± 5,50	950,53 ± 1,87
	62	24,26 ± 0,68	23,46 ± 2,24	1263,78 ± 7,61	1011,04 ± 22,12	179,28 ± 2,85	181,44 ± 1,39	1184,20 ± 5,35	966,57 ± 20,06
	75	14,39 ± 1,17	12,76 ± 1,15	628,49 ± 1,49	625,16 ± 10,10	201,98 ± 2,10	201,96 ± 4,54	1979,65 ± 1,21	1921,76 ± 31,10
Teste de Normalidade (W de Shapiro-Wilk) - valor de p		0,00000		0,00120		0,00008		0,00008	
Teste Não-Paramétrico (Mann-Whitney) - valor de p		0,6361		0,2089		0,8245		0,7338	

^a: média ± desvio padrão.

4 CONCLUSÃO

Diante da importância de monitorar as concentrações de ácidos orgânicos durante o processo fermentativo e da necessidade de agregar valor à água residual da produção do polvilho azedo, ambos os métodos de CLAE e EC descritos nesse trabalho foram validados para a identificação e quantificação dos ácidos láctico, acético, propiônico e butírico em amostra de água sobrenadante da fermentação de amido de mandioca. Todos os parâmetros de validação estão de acordo com as exigências da legislação brasileira. Não foram verificadas diferenças significativas entre os métodos em termos de performance analítica, considerando os compostos analisados. No entanto, nas condições de análise deste trabalho, devem ser levadas em consideração as vantagens da EC em relação à CLAE, como menor custo, menor geração de resíduos e menor tempo de análise (< 2 minutos).

REFERÊNCIAS

ÁBALOS, M.; BAYONA, J. M.; PAWLISZYN, J. Development of a headspace solid-phase microextraction procedure for the determination of free volatile fatty acids in waste waters. **Journal of Chromatography A**, v. 873, p. 107-115, 2000.

ARMITAGE, P.; BERRY, G. **Statistical Methods in Medical Research**. 3ª edição. Oxford: Blackwell, 1994. 620 p.

AVANCINI, S. R. P.; FACCIN, G. L.; TRAMONTE, R.; ROVARIS, A. A.; PODESTA, R.; SOUZA, N. M. A. de; VIEIRA, M. A. ; AMANTE, E. R. Cassava starch fermentation wastewater: characterization and preliminary toxicological studies. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, p. 2273-2278, 2007.

BONETT, D. G.; SEIER, E. A test of normality with high uniform power. **Computacional Statistics & Data Analysis**, v. 40, p. 435-445, 2002.

BRASIL. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Resolução n. 899 de 29 de maio de 2003.

BURKE, S. Missing values, outliers, robust statistics and non-parametric methods. **Statistics and data analysis, LCGC Europe online Supplement**, p. 19-24, 2001.

CÁRDENAS, O.S.; BUCKLE, T.S. Sour cassava starch production: a preliminary study. **Journal of Food Science**, v. 45, p. 1509-1512, 1980.

CARVALHO, E.P.; CANHOS, V.P.; RIBEIRO, V.E., CARVALHO, H.P. Polvilho Azedo: Aspectos físicos, químicos e microbiológicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 129-137, 1996.

CASSONI, V. **Valorização de resíduo de processamento de farinha de mandioca (manipueira) por acetificação**. 2008, 76f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Botucatu, 2008.

CEREDA, M. P. Tecnologia e qualidade do polvilho azedo. **Informe Agropecuário**, v. 13, n. 145, p. 63-68, 1987.

CERQUEIRA, M. B. R.; DIAS, A. N.; CALDAS, S. S.; SANTANA, F. B.; D’OCA, M. G. M.; PRIMEL, E. G. Validação de método para determinação de ácidos orgânicos voláteis em efluentes de reatores anaeróbicos empregando cromatografia líquida. **Química Nova**, v. 34, n. 1, p. 156-159, 2011.

CRUWYS, J. A.; DINSDALE, R. M.; HAWKES, F. R.; HAWKES, D. L. Development of a static headspace gas chromatographic procedure for the routine analysis of volatile fatty acids in wastewaters. **Journal of Chromatography A**, v. 945, p. 195-209, 2002.

DAMASCENO, S.; CEREDA, M. P.; PASTORE, G. M.; OLIVEIRA, J. G. Production of volatile compounds by *Geotrichum fragrans* using cassava wastewater as substrate. **Process Biochemistry**, v. 39, n. 4, p. 411-414. 2003.

DEMIATE, I. M.; SENGHER, S. A.; VOGLER, Z.; CEREDA, M. P.; WOSIACKI, G. Características de qualidade de amostras de polvilho azedo produzido ou comercializado no Estado do Paraná. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 40, n. 2, p. 331-349, 1997a.

DEMIATE, I. M.; SOUZA, T. O. de; PUGSLEY, S.; CEREDA, M. P.; WOSIACKI, G. Características de qualidade de amostras de polvilho azedo. Parte 2. Santa Catarina. **Agropecuária Catarinense**, v. 10, n. 4, p. 51-56, 1997b.

DEMIATE, I. M.; BARANA, A. C.; CEREDA, M. P.; WOSIACKI, G. Organic acid profile of commercial sour cassava starch. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 1, p. 131-135, 1999.

DESTENDAU, E.; VIAL, J.; JARDY, A.; HENNION, M. C.; BONNET, D.; LANCELIN, P. Development and validation of a reserved-phase liquid chromatography method for the quantitative determination of carboxylic acids in industrial reaction mixtures. **Journal of Chromatography A**, v. 1088, p. 59-56, 2005.

DRAPER, N. R.; SMITH, H. **Applied Regression Analysis**. 2ª edição. New York: John Wiley, 1981.

ESTEVEES, V. I.; LIMA, S. S. F.; LIMA, D. L. D.; DUARTE, A. C. Using capillary electrophoresis for the determination of organic acids in Port wine. **Analytica Chimica Acta**, v. 5131, p. 163-167, 2004.

GARCIA, R. G.; ARIKI, J.; MORAES, V. M. B.; KRONKA, S. N.; BORGES, S. A.; MURATA, L. S.; CAMPOS, V. A. Ação isolada ou combinada de ácidos orgânicos e promotor de crescimento em rações de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 2, n. 2, p. 149-154, 2000.

GEL, Y. R.; MIAO, W.; GASTWIRTH, J. L. Robust directed tests of normality against heavy-tailed alternatives. **Computational Statistics & Data Analysis**, v. 51, p. 2734-2746, 2007.

KRITSUNANKUL, O.; PRAMOTE, B.; JAKMUNEE, J. Flow injection on-line dialysis coupled to high performance liquid chromatography for

the determination of some organic acids in wine. **Talanta**, v. 79, p. 1042-1049, 2009.

LAMAISSON, F. do C. **Aplicação da água residuária do processamento da mandioca como substrato para a produção de hidrogênio por processo fermentativo**. 2009, 82f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2009.

MANN, H. B.; WHITNEY, D. R. On a test whether one of two random variables is stochastically larger than the other. **The Annals of Mathematic Statistics**, v. 18, n.1, p. 50-60, 1947.

MARCON, M. J. A.; VIEIRA, M. A.; SANTOS, K.; DE SIMAS, K. N.; AMBONI, R. D. M. C.; AMANTE, E. R. The effect of fermentation on cassava starch microstructure. **Journal of Food Process Engineering**, v. 29, p. 362-372, 2006.

PARADA, J. L.; FABRIZIO, S. V.; MARTINEZ, A. Microbiological and technological aspects of cassava-starch fermentation. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 12, n. 1, p. 53-56, 1996.

PERES, R. G.; MORAES, E. P.; MICKE, G. A.; TONIN, F. G.; TAVARES, M. F. M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Rapid method for the determination of organic acids in wine by capillary electrophoresis with indirect UV detection. **Food Control**, v. 20, p. 548-552, 2009.

REGINATTO, V.; KURTZ, D.; MARCON M. J. A.; XAVIER J. J. M.; SCUSSEL, V. M.; AMANTE, E. R. **Modificação do Processo de Produção de Polvilho Azedo Visando o Aumento na Concentração de Ácidos Orgânicos na Água Residuária**. 2º International Workshop Advances in Cleaner Production. São Paulo, 2009.

RIZZON, L.A.; SGANZERLA, V.M.A. Ácidos tartárico e málico no mosto de uva em Bento Gonçalves, RS. **Ciência Rural**, v. 37, p. 911-914, 2007.

ROYSTON, J.F. Some techniques for assessing multivariate normality based on the Shapiro-Wilk W. **Applied Statistics**, v. 32, p. 121-133, 1983.

SHAPIRO, S.S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v. 52, p. 591-611, 1965.

SILVEIRA, I. A.; CARVALHO, E. P.; PADUA, I. P. M.; DIONIZIO, F. L. Isolamento e caracterização da microbiota ácido láctica envolvida no processo fermentativo para produção de polvilho azedo – parte II. **Pro Homine**, v. 2, n. 2, p. 7-15, 2003.

ZHENG, Y. J.; DUAN, Y. T.; ZHANG, Y. F.; PAN, Q. H.; LI, J. M.; HUANG, W. D. Determination of organic acids in red wine and must on only one RP-LC-Column directly after sample dilution and filtration. **Chromatographia**, v. 69, p. 1391-1395.

ZOTOU, A.; LOUKOU, Z.; KARAVA, O. Method development for the determination of seven organic acids in wines by reversed-phase high performance liquid chromatography. **Chromatographia**, v. 60, n. 1/2, p. 39-44, 2004.

CAPÍTULO 4

Relações entre as propriedades do polvilho azedo produzido por processo fermentativo tradicional e modificado, com os ácidos orgânicos e as características físico-químicas da água sobrenadante da fermentação

Relações entre as propriedades do polvilho azedo produzido por processo fermentativo tradicional e modificado, com os ácidos orgânicos e as características físico-químicas da água sobrenadante da fermentação

Resumo

O processo produtivo do amido de mandioca fermentado envolve uma fermentação do tipo semi-sólida (água e amido), sem adição de inóculo. Como produto, o polvilho azedo apresenta características diferenciadas do amido nativo, a principal delas é a capacidade de expansão, sem glúten e sem adição de fermento. As águas residuais do processo produtivo podem apresentar características relacionadas ao polvilho azedo, no que diz respeito à presença de ácidos orgânicos. No presente trabalho foi acompanhado o processo produtivo do polvilho azedo, em laboratório, pelo processo tradicional e modificado (com adição de glicose). Os ácidos orgânicos no produto e nas águas foram determinados por eletroforese capilar. Verificou-se que as concentrações dos ácidos variaram ao longo dos diferentes processos fermentativos. As concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico foram maiores nas amostras de água de fermentação do que nas de polvilho azedo. Os ácidos acético e butírico corresponderam de 21,28 a 71,83% e de 28,16 a 64,59%, respectivamente, do total de ácidos orgânicos avaliados nas amostras de polvilho azedo. A análise de componentes principais indicou que a expansão não apresentou forte correlação com o ácido láctico. A quantificação de ácidos orgânicos nas águas sobrenadantes da fermentação do amido de mandioca indicou a possibilidade de futuros trabalhos para a valorização destas águas como fontes de ácidos orgânicos.

Palavras-chave: Amido de mandioca, Polvilho azedo, Fermentação, Água residual, Expansão, Ácidos orgânicos.

Relationships between the sour cassava starch properties produced by traditional and modified fermentative process, with organic acids and the physicochemical characteristics of the fermentation supernatant water

Abstract

The production process of fermented cassava starch involves a semi-solid fermentation (water and starch) without addition of inoculum. As a product, the sour cassava starch presents various different characteristics of the native starch, the main one is the capacity of expansion with gluten free and no added yeast. The wastewater from the production process may have characteristics related to sour cassava starch, with regard to the presence of organic acids. In this work, the production process of sour cassava starch in the laboratory by the traditional and modified fermentation (with added glucose) was studied. It has been found that organic acid concentrations varied over the different fermentation processes. The concentrations of acetic, propionic and butyric acids were higher in fermentation water samples than in sour cassava starch. Acetic and butyric acids corresponded from 21.28 to 71.83% and from 28.16 to 64.59%, respectively, of the total organic acids in the sour cassava samples evaluated. The principal component analysis indicated that the expansion did not show a strong correlation with lactic acid. The quantification of organic acids in the supernatant water from the fermentation of cassava starch indicated the possibility of future works for the appreciation of these waters as sources of organic acids.

Keywords: Cassava starch, Sour cassava starch, Fermentation, Wastewater, Expansion, Organic acids.

1 INTRODUÇÃO

O amido fermentado de mandioca, comumente denominado polvilho azedo, é um produto que se destaca pela sua propriedade de expansão durante o assamento e por não conter glúten, possibilitando a sua utilização em formulações para produtos destinados a celíacos. Apesar de ser bastante utilizado em países da América Latina, como Brasil, Colômbia, Equador e Paraguai, ainda existe a necessidade do polvilho azedo ser estudado sob vários aspectos, principalmente quanto a interferência de seus constituintes no mecanismo da propriedade de expansão (CADENA et al., 2006; DIAS et al., 2007).

A fermentação natural do amido de mandioca ocorre, geralmente, sem inoculação e sem suplementações nutricionais, sendo que o amido é o único substrato empregado para esse processo tendo como produto final o polvilho azedo (CAVALLET et al., 2006). Durante a fermentação do tipo submersa, o amido de mandioca deve permanecer nos tanques sob uma camada de água em torno de 5 a 20 cm, por um intervalo de tempo que varia, de acordo com as condições climáticas, de 20 dias podendo chegar a até 60 dias (DEMIATE et al., 2000; AVANCINI, 2007).

Sabe-se que as primeiras etapas da fermentação do amido de mandioca são caracterizadas pela geração de açúcares, a partir da ação de enzimas amilolíticas microbianas. Assim, a adição de glicose subentende a oportunidade de transpor etapas no processo, disponibilizando substratos em maior concentração para a etapa de fermentação, reduzindo o tempo de processo (AQUINO et al., 2013; MARCON et al., 2006).

As águas resultantes da fermentação do amido, descartadas ao final do processo são ainda pouco estudadas, mas vale ressaltar que os efluentes da fermentação do amido de mandioca diferem das águas residuais geradas no processo de produção de farinha pela prensagem da massa ralada da mandioca e da extração do amido de mandioca, comumente denominadas de manipueira. No entanto, Avancini et al.

(2007) verificaram que a água sobrenadante da fermentação de amido de mandioca apresentou baixa toxicidade aguda ($> 5,0 \text{ g kg}^{-1}$ de peso) e a ingestão de diferentes concentrações dessa água durante 28 dias não causou alterações clínicas e hematológicas significativas nos camundongos, mas ainda existem poucas referências sobre a composição dos ácidos orgânicos nessas águas.

O processo fermentativo do amido de mandioca pode ocorrer com um baixo nível ou com excesso de água, essa última é uma prática comum nas indústrias de polvilho azedo do Brasil e da Colômbia (CÁRDENAS; BUCKLE, 1980), mas algumas indústrias fazem uso da água apenas para iniciar o processo, o que pode comprometer a qualidade do produto fermentado resultando em uma distribuição heterogênea dos micro-organismos envolvidos no processo (AVANCINI, 2007).

O despejo indevido dos subprodutos da mandioca, além do aspecto de agressão ambiental, constitui em perdas de rendimentos para o produtor, quando se consideram as quantidades geradas e a composição. A caracterização de resíduos agroindustriais é uma ferramenta indispensável para propostas de conversão de resíduos em matérias primas, bem como a minimização do impacto ambiental para o setor (AMANTE, 1997).

Estudos relacionando a composição das águas sobrenadantes com as propriedades do polvilho azedo são inexistentes. Com este trabalho objetivou-se avaliar e correlacionar as características físico-químicas e a quantificação dos ácidos orgânicos de amostras de polvilho azedo e de suas respectivas águas sobrenadantes durante a fermentação tradicional e modificada, sem e com adição de glicose, respectivamente.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 AMOSTRAS

Foram utilizadas amostras de águas de fermentação de amido de mandioca e de seus respectivos polvilhos azedos obtidas de processos tradicionais (água + amido de mandioca) e modificados (água + amido de mandioca + glicose), detalhados no item 2.2 do Capítulo 2, totalizando 10 (dez) amostras.

2.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

2.2.1 Águas de fermentação

Os sólidos solúveis totais (°Brix) foram determinados com a utilização de um refratômetro digital portátil (Quick-BrixTM 90, Columbus, Ohio, Estados Unidos). As análises de proteínas (AOAC 920.152), lipídeos (AOAC 963.15) e resíduo mineral fixo (AOAC 940.26) foram realizadas de acordo com os métodos recomendados pela *Association of Official Analytical Chemists* - AOAC (2005). O teor de açúcares redutores foi determinado pelo método espectrofotométrico do ácido 3, 5 dinitrosalicílico (DNS) (MILLER, 1959).

2.2.2 Polvilho azedo

O pH foi determinado por leitura direta do líquido sobrenadante, após mistura de 10 g da amostra de polvilho azedo em 100 mL de água destilada utilizando o potenciômetro (marca Quimis, modelo Q400A, Diadema, Brasil). A acidez titulável por titulação de NaOH 0,1 mol L⁻¹ até atingir pH 8,2 a 8,3, utilizando solução alcoólica de fenolftaleína para determinação da mudança de cor e foi expressa em mL de NaOH 1 mol L⁻¹ por 100 g de matéria seca. A análise de umidade

foi realizada de acordo com o método 935.29 da AOAC, através de secagem em estufa a 105 °C (AOAC, 1999).

2.3 DETERMINAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS

2.3.1 Preparo de amostras

Como nas águas de fermentação do amido de mandioca os ácidos orgânicos se encontram solubilizados, as amostras foram apenas filtradas em membrana de politetrafluoretileno (PTFE) de 0,22 µm (Allcrom, São Paulo, Brasil) e diluídas com solução de padrão interno (9:1, v/v, amostra:PI a 250 mg L⁻¹) para posterior injeção no equipamento de eletroforese capilar (EC).

Para análise das amostras de polvilho azedo, as mesmas foram preparadas de acordo com Demiate et al. (1999), sendo que 15g foram suspensas em 30 mL de solução de ácido sulfúrico 0,005 mol L⁻¹ por um período de 24 horas em temperatura ambiente com agitação ocasional. Essas suspensões foram centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos e a 6000 rpm por 20 minutos e em seguida filtradas em membrana de politetrafluoretileno (PTFE) de 0,22 µm (Allcrom, São Paulo, Brasil) para posterior injeção no equipamento de EC.

2.3.2 Sistema de eletroforese capilar

Os experimentos foram conduzidos, de acordo com Aquino et al. (2015), em um sistema de eletroforese capilar (modelo 7100, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, E.U.A.), equipado com detector de arranjo de diodos (DAD) e sistema de refrigeração por circulação de ar. O *software* HP ChemStation, rev A.06.01 foi utilizado para aquisição e tratamento de dados.

O eletrólito de corrida na proporção 20 mmol L⁻¹ de ácido benzóico, 25 mmol L⁻¹ de BIS-TRIS e 0,2 mmol L⁻¹ de CTAB foi

preparado por pesagem direta de 24,4 mg de ácido benzóico e 52,4 mg de BIS-TRIS e adição de 200 μL de solução de CTAB 100 mmol L^{-1} em um volume de 10 mL de solução, resultando em pH 5,8 diretamente, não havendo necessidade de ajuste de pH sendo armazenado sob refrigeração durante o uso.

A separação dos analitos foi realizada com injeção hidrodinâmica, pressão de 50 mbar por 3 segundos, tensão aplicada de 30 kV, com polaridade negativa, detecção realizada no modo indireto com aquisição de sinal a 232 nm e pré-condicionamento entre corridas de 60 s. O comprimento do capilar de sílica utilizado foi de 48,5 cm (efetivo 40 cm) e 50 μm de diâmetro interno a temperatura de 25 $^{\circ}\text{C}$.

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todas as análises foram realizadas em triplicata ($n=3$) e os resultados expressos como média e desvio padrão. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias de Tukey, sendo utilizado como critério mínimo o nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Todo tratamento estatístico dos dados foi realizado utilizando o software Statistica 7.0 (STATSOFT, 2004).

Os dados da quantificação de ácidos orgânicos e das propriedades de expansão (índice de expansão e volume específico, resultados apresentados nas Tabelas 4 e 5 do Capítulo 2) das amostras de polvilho azedo em diferentes tempos de fermentação também foram submetidos à análise estatística multivariada pelos métodos de componentes principais (PCA) e correlação linear de Pearson ($p < 0,05$) com a utilização da linguagem estatística R (v.2.15.2).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 1, as águas residuais dos processos fermentativos tradicional e modificado apresentaram, respectivamente, valores de 3,35 a 6,82 e 5,12 a 7,71 mg 100mL⁻¹ de proteínas; 0,97 a 4,02 e 3,02 a 11,40 mg 100mL⁻¹ de cinzas e lipídeos não foram detectados.

Tabela 1 - Características físico-químicas de águas de fermentação de amido de mandioca na produção de polvilho azedo, em condições laboratoriais, por processo tradicional e modificado.

Método de fermentação	Coleta	Tempo (dias)	°Brix	Cinzas (mg 100mL ⁻¹)	Proteínas (mg 100mL ⁻¹)	Açúcares Redutores (mg 100mL ⁻¹)
Tradicional	1	32	0,13 ± 0,06 ^{bB}	0,97 ± 0,06 ^{bB}	3,35 ± 0,01 ^{dB}	4,60 ± 0,09 ^{dB}
	2	46	0,23 ± 0,06 ^{abA}	1,00 ± 0,01 ^{bB}	4,03 ± 0,23 ^{cB}	4,72 ± 0,11 ^{dB}
	3	61	0,30 ± 0,00 ^{aA}	1,01 ± 0,01 ^{bB}	5,19 ± 0,02 ^{bA}	18,54 ± 0,53 ^{aB}
	4	74	0,17 ± 0,06 ^{bA}	1,00 ± 0,01 ^{bB}	5,20 ± 0,03 ^{bA}	10,15 ± 0,18 ^{bB}
	5	85	0,30 ± 0,00 ^{aB}	4,02 ± 0,02 ^{aB}	6,82 ± 0,22 ^{aB}	7,45 ± 0,21 ^{cB}
Modificado	1	19	0,27 ± 0,06 ^{bA}	11,40 ± 0,06 ^{aA}	5,12 ± 0,05 ^{bA}	63,80 ± 1,75 ^{aA}
	2	33	0,20 ± 0,00 ^{bA}	5,04 ± 0,02 ^{bA}	5,85 ± 0,21 ^{bA}	44,72 ± 2,83 ^{bA}
	3	48	0,27 ± 0,12 ^{bA}	3,02 ± 0,01 ^{dA}	5,14 ± 0,05 ^{bA}	29,57 ± 1,37 ^{dA}
	4	62	0,20 ± 0,00 ^{bA}	4,03 ± 0,02 ^{cA}	5,37 ± 0,26 ^{bA}	38,57 ± 0,05 ^{cA}
	5	75	0,57 ± 0,06 ^{aA}	5,04 ± 0,05 ^{bA}	7,71 ± 0,69 ^{aA}	22,18 ± 0,23 ^{aA}

Média ± Desvio Padrão.

Letras minúsculas comparam médias, na mesma coluna, entre os diferentes tempos para o mesmo método de fermentação, e maiúsculas, na mesma coluna, entre os diferentes métodos de fermentação para a mesma coleta. Letras diferentes diferem significativamente ($p < 0,05$), de acordo com o teste de Tukey.

Os resultados apresentados estão de acordo com o encontrado para o amido de mandioca, onde tanto no amido nativo quanto nos modificados, observa-se a ausência de odor de cereal, próprio do amido de milho, que é um fator importante para utilização na indústria alimentícia. Essa característica se deve a baixos teores de proteína e

lipídeos que proporcionam um sabor e aroma neutro sem as características próprias dos amidos de cereais (CEREDA; VILPOUX; DEMIATE, 2003).

Os maiores valores para sólidos solúveis totais (°Brix) se apresentaram nas últimas coletas dos dois métodos de fermentação, variando entre 0,13 a 0,30 no processo tradicional e de 0,27 a 0,57 no processo modificado.

Com relação aos açúcares redutores, as concentrações na fermentação tradicional variaram de 4,60 a 18,54 mg 100mL⁻¹, sendo que o maior valor foi verificado na coleta 3 (61 dias). No método modificado a maior concentração foi observada na primeira coleta (63,80 mg 100mL⁻¹), o que se deve a adição de glicose realizada no início do processo, sendo que a concentração final nesse processo foi 22,18 mg 100mL⁻¹. Essas concentrações são inferiores quando comparadas com a concentração encontrada por Damasceno et al. (2003), 38 g L⁻¹ (3800 mg 100mL⁻¹), avaliando a composição do resíduo líquido de uma fábrica de farinha de mandioca, manipueira, em São Paulo. Embora o resíduo líquido em estudo não corresponda ao efluente da indústria de mandioca mais estudado, a manipueira, ao fazer a comparação entre esses resíduos, justificada por não existir dados sobre a água de fermentação de amido de mandioca, verifica-se que os mesmos apresentam composições diferentes.

De acordo com o trabalho de Damasceno et al. (2001), a composição média da manipueira em carbono foi: 5818 mg 100mL⁻¹ de açúcares totais dos quais 3796 mg 100mL⁻¹ de açúcares redutores (com 1490 mg 100mL⁻¹ de frutose; 2234 mg 100mL⁻¹ de glicose e 72 mg 100mL⁻¹ de maltose). Já Leonel e Cereda (1995) relatam a presença de 5,71% de amido e 2,93% de açúcares redutores totais na manipueira coletada na prensa. Ainda para a manipueira outros autores encontraram como valores de açúcares redutores: 4338 mg 100mL⁻¹ (CASSONI; CEREDA, 2011); 3950 mg 100mL⁻¹ (MARÓSTICA JÚNIOR, 2006) e 4145 mg 100mL⁻¹ (NITSCHKE; PASTORE 2003).

O líquido sobrenadante da fermentação do amido de mandioca foi avaliado por Cavallet et al. (2006), quando esses investigaram a hipótese da presença de fixação biológica de N_2 atmosférico na fase inicial do processo fermentativo do amido de mandioca tendo como indicador a determinação dos valores totais de N na suspensão água/amido, e verificaram que a mesma continha uma pequena parte de carbono, representada principalmente por açúcares redutores, formados por moléculas de maltotetraoses, maltotrioses, maltose e glicose originados da superfície dos grânulos de amido de mandioca (CEREDA et al., 1982).

Quanto à caracterização físico-química das amostras de polvilho azedo obtidas pelos métodos de fermentação tradicional e modificado (Tabela 2), o pH variou, respectivamente, entre 4,12 a 4,82 e de 4,17 a 5,92. Os valores observados de acidez titulável (mL de NaOH 1 mol L^{-1} /100g) estão entre 1,06 (61 dias) e 2,32 (74 dias) no método tradicional, e 0,52 (19 dias) e 2,16 (33 dias) no modificado. Cereda e Vilpoux (2002) indicam que a acidez titulável superior a 7,0 mL de NaOH 1 mol L^{-1} /100g caracteriza uma fermentação muito intensa, enquanto volumes inferiores a 3,0 mL de NaOH 1 mol L^{-1} /100g caracterizam a quase ausência de fermentação. Diniz (2006) avaliando doze indústrias de polvilho azedo de diferentes regiões do estado de Minas Gerais encontrou valores de acidez titulável de 1,97 a 7,43 mL de NaOH 1 mol L^{-1} /100g, e de pH entre 4,00 e 4,83. Maeda (1999) encontrou acidez inferior a 5,0 mL de NaOH 1 mol L^{-1} /100g em produtos provenientes do estado do Paraná.

Observa-se que os valores de acidez titulável do presente estudo são inferiores aos relatados por outros autores que analisaram amostras de polvilho azedo provenientes de polvilharias, enquanto que as desse trabalho foram obtidas em condições laboratoriais, utilizando amido nativo comercial para a fermentação, resultando em um processo fermentativo menos intenso. Sabe-se que para acelerar a fermentação e reduzir o tempo de permanência do amido nos tanques de fermentação, alguns produtores utilizam como inóculo o polvilho da safra anterior

deixando os tanques sujos de uma safra para outra ou colocando no fundo do tanque um pouco de polvilho azedo (CEREDA, 1987).

Dias et al. (2007) também verificaram valores baixos de acidez titulável (0,75 a 2,50 mL de NaOH 1 mol L⁻¹/100g) em amostras de polvilho azedo, obtidas em laboratório, ao longo de 50 dias de fermentação, e atribuíram isso as temperaturas amenas do período estudado, entre 18 e 20 °C de temperatura média diária.

Tabela 2 - Características físico-químicas de amostras de polvilho azedo obtidas em condições laboratoriais, por processos de fermentação tradicional e modificado.

Método de fermentação	Coleta	Tempo (dias)	Umidade (g 100g ⁻¹)	pH	ATT (mL de NaOH 1 mol L ⁻¹ /100g)
Tradicional	1	32	13,17 ± 0,28 ^{dA}	4,45 ± 0,01 ^{BB}	1,35 ± 0,07 ^{BA}
	2	46	15,35 ± 0,24 ^{AA}	4,25 ± 0,08 ^{CA}	1,45 ± 0,03 ^{BB}
	3	61	14,89 ± 0,30 ^{abA}	4,82 ± 0,05 ^{AA}	1,06 ± 0,03 ^{CB}
	4	74	14,51 ± 0,33 ^{bcB}	4,12 ± 0,03 ^{DB}	2,32 ± 0,11 ^{AA}
	5	85	13,86 ± 0,30 ^{cdA}	4,45 ± 0,03 ^{BA}	1,13 ± 0,06 ^{CB}
Modificado	1	19	12,04 ± 0,30 ^{CB}	5,92 ± 0,01 ^{AA}	0,52 ± 0,03 ^{CB}
	2	33	14,07 ± 0,10 ^{BB}	4,17 ± 0,01 ^{DA}	2,16 ± 0,04 ^{AA}
	3	48	13,60 ± 0,24 ^{BB}	4,45 ± 0,02 ^{BB}	1,37 ± 0,03 ^{DA}
	4	62	15,97 ± 0,31 ^{AA}	4,19 ± 0,01 ^{DA}	1,89 ± 0,06 ^{BB}
	5	75	13,71 ± 0,09 ^{BA}	4,36 ± 0,01 ^{CB}	1,56 ± 0,06 ^{CA}

Média ± Desvio Padrão.

ATT: acidez total titulável (em base seca).

Letras minúsculas comparam médias, na mesma coluna, entre os diferentes tempos para o mesmo método de fermentação, e maiúsculas, na mesma coluna, entre os diferentes métodos de fermentação para a mesma coleta. Letras diferentes diferem significativamente (p<0,05), de acordo com o teste de Tukey.

As umidades médias para as amostras de polvilho azedo obtidas por processo fermentativo tradicional e modificado foram,

respectivamente, 14,36 e 13,88%. Diniz (2006) encontrou umidade média de 13,88% analisando 12 amostras de polvilho azedo provenientes do estado de Minas Gerais. Esses resultados estão de acordo com os obtidos por outros autores, que avaliaram a umidade de polvilhos azedos comerciais em diferentes estados do Brasil: 13,90 a 15,00% em Minas Gerais; 13,60 a 14,30% em Santa Catarina; 13,60% no Paraná e Mato Grosso do Sul (ASQUIERI, 1990; MAEDA, 1999; PEREIRA, 2001; CEREDA; VILPOUX, 2002). Vale ressaltar que a legislação vigente (BRASIL, 2005) não estabelece parâmetros de qualidade para o polvilho azedo, apenas para o amido de mandioca, sendo 18% de umidade o limite máximo permitido.

3.2 QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS NAS ÁGUAS SOBRENADANTES DA FERMENTAÇÃO DE AMIDO DE MANDIOCA

Observa-se (Tabela 3) a predominância dos ácidos acético e butírico em todas as amostras das águas da fermentação do polvilho azedo estudadas neste trabalho, diferentemente do que foi verificado na maioria dos trabalhos publicados que realizaram o estudo do processo fermentativo do amido de mandioca, bem como a quantificação de ácidos orgânicos em polvilho azedo (CÁRDENAS; BUCKLE, 1980; CARVALHO et al., 1996; PARADA; FABRIZIO; MARTINEZ, 1996; DEMIATE et al., 1999; SILVEIRA et al., 2003), nos quais se destacou a fermentação láctica. Apesar da quantificação de ácidos orgânicos no polvilho azedo ter sido realizada em inúmeros trabalhos como citado anteriormente, as correlações entre os ácidos orgânicos do processo fermentativo que fixam no amido e aqueles que permanecem solúveis nas águas sobrenadantes dos tanques de fermentação não foram estudados até a realização deste trabalho.

Quanto às baixas concentrações de ácido láctico verificadas, em relação aos demais tanto nas águas de fermentação como nos polvilhos azedos (Tabelas 3 e 4), é importante ressaltar que o experimento de

fermentação desse estudo foi realizado com amido comercial (polvilho doce) e em condições laboratoriais que diferem consideravelmente do processo industrial, que é realizado com amido recém-extraído e num ambiente naturalmente contaminado e mais favorável a fermentação. Além disso, as bactérias ácido lácticas apresentam exigências nutricionais mais complexas (KANDLER; WEISS, 1986), e a carência de nutrientes no meio fermentativo do presente estudo pode ter resultado na baixa produção de ácido láctico.

Outra justificativa seria que o experimento em laboratório foi conduzido no verão de 2011/2012 e foram verificadas temperaturas, do ambiente e dos tanques, de até 35 °C (Tabela 2 - Capítulo 2) ao longo do processo fermentativo. Sabe-se que em regiões frias a fermentação é mais lenta e a microbiota láctica predomina, enquanto nas regiões quentes, a fermentação é mais rápida e predomina a microbiota butírica (CEREDA; CATÂNEO, 1986; SILVEIRA et al., 2003, LACERDA et al., 2005). Bangou (1995) estudou a fermentação do amido de mandioca em duas temperaturas diferentes, 20 e 35 °C, por um período de 15 dias e determinou os teores de ácido láctico e butírico em amostras de polvilho azedo. A 35 °C o ácido butírico foi encontrado em maior quantidade (1380 mg kg⁻¹), seguida do ácido láctico (930 mg kg⁻¹). A 20 °C ocorreu o contrário, ou seja, o componente em maior concentração foi o ácido láctico (2470 mg kg⁻¹).

As maiores concentrações de ácido láctico observadas foram nas coletas 3 (61 dias - 117,73 mg L⁻¹) e 5 (85 dias - 126,55 mg L⁻¹) da fermentação tradicional, e na coleta 3 (48 dias - 57,23 mg L⁻¹) para a fermentação modificada. Enquanto que na última coleta do processo tradicional (85 dias) a concentração de ácido láctico foi 126,55 mg L⁻¹, no processo modificado (75 dias) foi de 12,76 mg L⁻¹, representando uma redução significativa ($p < 0,05$) de 77,7% em relação a coleta 3.

Como micro-organismos prevalentes associados à fermentação espontânea do amido de mandioca têm sido relatados *Lactobacillus plantarum* e outras bactérias ácido lácticas (BAL) (FIGUEROA et al., 1995, 1997; OMAR et al., 2000; AMPE et al., 2001). Estes micro-

organismos são conhecidos por serem responsáveis pela produção de ácidos orgânicos e compostos aromáticos. Ampe et al. (2001), através de métodos moleculares, mostraram que os organismos dominantes na fermentação espontânea de amido de mandioca na Colômbia foram todas bactérias lácticas. Carvalho et al. (1999) verificaram que *Lactobacillus* foi o gênero predominante durante 36 dias de fermentação em uma pequena fábrica no estado de Minas Gerais e representou 66,7% do total de micro-organismos isolados. Outros estudos também relataram a ocorrência de bactérias lácticas em fermentações espontâneas na produção de polvilho azedo no Brasil (CEREDA, 1973; CARVALHO et al, 1999).

Tabela 3 - Concentração de ácidos orgânicos e % do total de ácidos em amostras de água de fermentação de amido de mandioca em diferentes métodos e tempos de fermentação realizada em condições laboratoriais.

Método de fermentação	Coleta	Tempo (dias)	mg L ⁻¹ e % do total de ácidos									
			Ácido láctico		Ácido acético		Ácido propiônico		Ácido butírico		Total	
Tradicional	1	32	17,08 ± 0,24 ^{dA}	2,05	398,91 ± 4,17 ^{dB}	47,87	57,67 ± 0,77 ^{cB}	6,92	359,71 ± 3,87 ^{cB}	43,16	833,37	
	2	46	32,59 ± 1,67 ^{cA}	2,19	717,92 ± 9,55 ^{cA}	48,26	59,67 ± 0,66 ^{cB}	4,01	677,57 ± 13,30 ^{cB}	45,54	1487,75	
	3	61	117,73 ± 3,85 ^{bA}	4,70	1178,32 ± 11,80 ^{aA}	47,06	74,77 ± 0,80 ^{bB}	2,99	1132,87 ± 11,10 ^{aA}	45,25	2503,69	
	4	74	21,28 ± 0,80 ^{dA}	1,39	776,60 ± 7,55 ^{bB}	50,61	119,18 ± 2,25 ^{aB}	7,77	617,54 ± 2,45 ^{dB}	40,24	1534,60	
	5	85	126,55 ± 3,13 ^{aA}	5,16	1180,32 ± 10,70 ^{aA}	48,16	71,50 ± 1,95 ^{bB}	2,92	1072,71 ± 10,50 ^{bB}	43,76	2451,08	
Modificado	1	19	15,70 ± 0,60 ^{cB}	0,94	581,10 ± 10,95 ^{dA}	34,91	111,56 ± 1,76 ^{dA}	6,70	956,09 ± 16,82 ^{cA}	57,44	1664,45	
	2	33	13,20 ± 2,33 ^{cB}	0,71	601,95 ± 4,89 ^{cdB}	32,48	119,71 ± 4,46 ^{dA}	6,46	1118,56 ± 5,87 ^{bA}	60,35	1853,42	
	3	48	57,23 ± 0,71 ^{aB}	2,57	1059,38 ± 10,40 ^{aB}	47,62	157,37 ± 1,07 ^{cA}	7,07	950,53 ± 1,87 ^{cB}	42,73	2224,51	
	4	62	23,46 ± 2,24 ^{bA}	1,07	1011,04 ± 22,12 ^{bA}	46,32	181,44 ± 1,39 ^{bA}	8,31	966,57 ± 20,06 ^{cA}	44,29	2182,51	
	5	75	12,76 ± 1,15 ^{cB}	0,46	625,16 ± 10,10 ^{cB}	22,64	201,96 ± 4,54 ^{aA}	7,31	1921,76 ± 31,10 ^{aA}	69,59	2761,64	

*Média ± Desvio Padrão.

**Letras minúsculas comparam médias, na mesma coluna, entre os diferentes tempos para o mesmo método de fermentação, e maiúsculas, na mesma coluna, entre os diferentes métodos de fermentação para a mesma coleta. Letras diferentes diferem significativamente ($p < 0,05$), de acordo com o teste de Tukey.

Na primeira coleta da água de fermentação por processo modificado (19 dias), a concentração de ácido acético ($581,10 \text{ mg L}^{-1}$) foi significativamente superior ($p < 0,05$) a da fermentação tradicional (32 dias - $398,91 \text{ mg L}^{-1}$). Para ambos os processos fermentativos observou-se um aumento desse composto até a coleta 3, onde foram atingidas as maiores concentrações (61 dias - $1178,32 \text{ mg L}^{-1}$ e 48 dias - $1059,38 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente, para os métodos tradicional e modificado). Comparando os métodos em relação aos dias de fermentação, observa-se que em 74 e 75 dias (coleta 4 - tradicional e coleta 5 - modificada, respectivamente) as concentrações de ácido acético são similares, e no processo tradicional, no qual a fermentação continuou até o 85º dia, essa concentração ainda apresentou um aumento de 52%.

Para o ácido propiônico a partir da coleta 3 (48 dias - $157,37 \text{ mg L}^{-1}$) do método modificado foi observado um aumento significativo da sua concentração até a última coleta, atingindo $201,96 \text{ mg L}^{-1}$ no 75º dia de fermentação. Um comportamento de aumento na concentração desse ácido também foi observado no processo tradicional a partir da coleta 3 ($74,77 \text{ mg L}^{-1}$) até a coleta 4 ($119,18 \text{ mg L}^{-1}$), mas no fim da fermentação (85 dias) essa concentração reduziu para 60% da observada na coleta anterior.

A maior concentração de ácido orgânico nas águas de fermentação analisadas neste estudo foi a observada para o ácido butírico na coleta 5 (75 dias - $1921,76 \text{ mg L}^{-1}$) da fermentação modificada, enquanto que no processo tradicional o maior teor desse ácido foi $1132,87 \text{ mg L}^{-1}$ na coleta 3 (61 dias).

Pode-se verificar que as concentrações dos ácidos variaram significativamente ao longo dos diferentes processos fermentativos, um comportamento linear e crescente foi observado apenas para o ácido propiônico no método modificado. Essa produção de ácidos diversificada pode ser explicada pela sucessão de populações microbianas envolvida na fermentação tradicional de amido de mandioca, como sugerido por Figueroa, Davila e Pourquié (1995),

sendo essa determinada pela sensibilidade dos micro-organismos à condição de elevada acidez que é desenvolvida durante o processo fermentativo (AMPE; SIRVENT; ZAKHIA, 2001).

Reginatto et al. (2009) realizaram modificações no meio de fermentação do amido do mandioca, adicionando glicose como fonte de carbono e cloreto de amônio como fonte de nitrogênio, para verificar os seus efeitos sobre a produção de ácidos orgânicos e sobre as características do polvilho azedo. Na fermentação com adição de glicose, as concentrações verificadas nas águas ao longo de 45 dias de processo variaram entre 0 e 650 mg L⁻¹ dos ácidos láctico e acético, aproximadamente 200 mg L⁻¹ do ácido propiônico, enquanto que o ácido butírico não foi detectado.

3.3 QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS NAS AMOSTRAS DE POLVILHO AZEDO

Na quantificação dos ácidos orgânicos nas amostras de polvilho azedo (Tabela 4) as concentrações de ácido láctico variaram entre <LOQ a 55,83 mg kg⁻¹, sendo o maior valor observado na coleta 3 (61 dias) na fermentação tradicional, e de <LOQ a 32,13 mg kg⁻¹ no processo modificado. Com 32 (coleta 1) e 33 dias (coleta 2), das fermentações tradicional e modificada, respectivamente, as concentrações de ácido acético foram 311,38 e 285,23 mg kg⁻¹, e o maior valor verificado desse ácido foi 379,58 mg kg⁻¹ na coleta 4 (74 dias) do método tradicional.

A concentração de ácido propiônico nas amostras de polvilho azedo, obtidas pelo processo tradicional, aumentou ao longo dos dias de fermentação (<LOQ a 49,73 mg kg⁻¹), enquanto que no método modificado as maiores concentrações (37,43 e 39,62 mg kg⁻¹) foram observadas em 33 e 62 dias (coletas 2 e 4, respectivamente). A partir da coleta 2, para ambos os métodos de fermentação, as concentrações de ácido butírico foram superiores as dos demais ácidos analisados, com os valores máximos de 670,92 mg kg⁻¹ em 74 dias (coleta 4) de

fermentação tradicional e de 478,72 mg kg⁻¹ em 33 dias (coleta 2) de fermentação modificada.

Demiate et al. (1999) analisaram, por CLAE, 29 amostras de amido de mandioca fermentado das regiões Sul e Sudeste adquiridos diretamente das fábricas ou do comércio, e verificaram concentrações, em base seca, entre 120 e 830 mg kg⁻¹ de ácido láctico, 0 e 680 mg kg⁻¹ de ácido acético, 0 e 130 mg kg⁻¹ de ácido propiônico, 0 e 570 mg kg⁻¹ de ácido butírico, as quais são superiores, principalmente no caso do ácido láctico, às encontradas nas amostras de polvilho azedo obtidas em condições laboratoriais. Cereda (1983) analisou amostras de polvilho azedo dos estados do Paraná e de Santa Catarina e verificou uma maior concentração para o ácido butírico, seguido dos ácidos láctico e acético.

De acordo com os resultados apresentados nas Tabelas 3 e 4 observa-se que as concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico foram maiores nas amostras de água de fermentação do que nas de polvilho azedo. Em relação ao ácido láctico, apenas nas coletas 2, 4 e 5 da fermentação modificada, as concentrações deste foram superiores no polvilho azedo comparativamente com as águas nos mesmos tempos. Levando em consideração o total de ácidos em cada amostra, observa-se que a representatividade do ácido láctico foi maior nas amostras de polvilho azedo, na coleta 3 (61 dias) da fermentação tradicional o mesmo representou 18,45% na amostra de polvilho azedo, enquanto que na água esse valor foi 4,70%. É importante ressaltar ainda que os ácidos acético e butírico corresponderam de 21,28 a 71,83% e de 28,16 a 64,59%, respectivamente, do total de ácidos orgânicos avaliados nas amostras de polvilho azedo.

Comparando-se os valores totais de ácidos orgânicos determinados por EC (Tabela 4) com a acidez obtida por titulação (Tabela 2) nas amostras de polvilho azedo, foi possível verificar que esses parâmetros estão relacionados ($R^2 = 0,8714$). Esse comportamento também foi observado por Silva et al. (2006) analisando amostras comerciais de polvilho azedo disponíveis no mercado brasileiro.

Tabela 4 - Concentração de ácidos orgânicos e % do total de ácidos em amostras de polvilho azedo obtidas em diferentes métodos e tempos de fermentação realizada em condições laboratoriais.

Método de fermentação	Coleta	Tempo (dias)	mg kg ⁻¹ e % do total de ácidos									
			Ácido láctico		Ácido acético		Ácido propiônico		Ácido butírico		Total	
Tradicional	1	32	< LOQ	-	278,65 ± 6,53 ^{cA}	69,11	< LOQ	-	124,53 ± 3,09 ^{cA}	30,89	403,18	
	2	46	17,82 ± 1,81 ^{cB}	2,40	311,38 ± 12,83 ^{bA}	41,94	16,77 ± 1,03 ^{cB}	2,26	396,48 ± 13,56 ^{bB}	53,40	742,45	
	3	61	55,83 ± 4,50 ^{aA}	18,45	64,39 ± 1,48 ^{cB}	21,28	17,86 ± 1,02 ^{cB}	5,90	164,49 ± 8,30 ^{dB}	54,37	302,57	
	4	74	18,26 ± 0,29 ^{cB}	1,64	379,58 ± 0,81 ^{aA}	34,16	42,40 ± 0,81 ^{bA}	3,82	670,92 ± 9,29 ^{aA}	60,38	1111,16	
	5	85	39,08 ± 1,93 ^{bA}	9,72	119,96 ± 3,66 ^{dB}	29,83	49,73 ± 3,66 ^{aA}	12,37	193,32 ± 5,33 ^{cB}	48,08	402,09	
Modificado	1	19	< LOQ	-	47,21 ± 3,88 ^{dB}	71,83	< LOQ	-	18,51 ± 0,34 ^{dB}	28,16	65,72	
	2	33	23,62 ± 2,04 ^{bA}	2,86	285,23 ± 1,47 ^{aB}	34,57	37,43 ± 0,79 ^{aA}	4,54	478,72 ± 3,56 ^{aA}	58,03	825,00	
	3	48	18,23 ± 1,12 ^{cB}	4,48	93,32 ± 2,19 ^{cA}	22,94	32,48 ± 0,79 ^{bA}	7,99	262,70 ± 18,60 ^{cA}	64,59	406,73	
	4	62	32,13 ± 1,98 ^{aA}	4,49	274,44 ± 8,25 ^{aB}	38,35	39,62 ± 2,47 ^{aA}	5,54	369,36 ± 16,39 ^{bB}	51,62	715,55	
	5	75	30,01 ± 1,11 ^{aB}	3,86	246,08 ± 1,46 ^{bA}	31,66	25,40 ± 1,58 ^{cB}	3,27	475,84 ± 2,67 ^{aA}	61,22	777,32	

*Média ± Desvio Padrão (base seca).

**Letras minúsculas comparam médias, na mesma coluna, entre os diferentes tempos para o mesmo método de fermentação, e maiúsculas, na mesma coluna, entre os diferentes métodos de fermentação para a mesma coleta. Letras diferentes diferem significativamente ($p < 0,05$), de acordo com o teste de Tukey.

LOQ (ácido láctico) = 25 mg kg⁻¹ LOQ (ácido propiônico) = 16 mg kg⁻¹

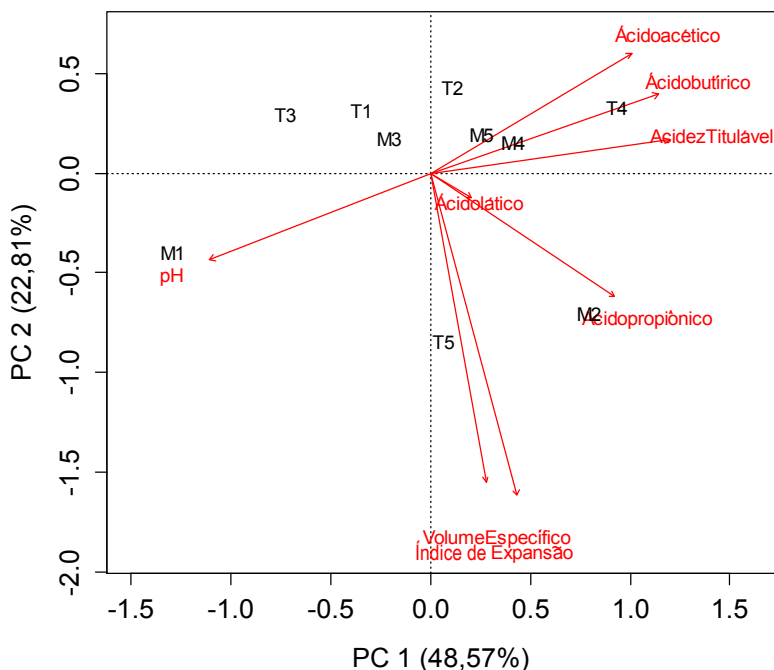
3.4 ANÁLISE MULTIVARIADA

Os resultados de ATT, quantificação de ácidos orgânicos e propriedades de expansão das amostras de polvilho azedo obtidas em diferentes tempos por processos de fermentação tradicional e modificado foram submetidos à Análise de Componentes Principais (PCA) (Figura 1). O primeiro (PC1) e o segundo (PC2) componentes principais representaram 48,57 e 22,81% da variação, respectivamente, expressando 71,38% do total da variância.

As variáveis ATT, ácido acético e ácido butírico estão correlacionadas positivamente no lado positivo de PC2, enquanto que os resultados de expansão e volume específico estão fortemente correlacionados e representam as variáveis mais significativas do lado negativo de PC2. Considerando o lado positivo de PC1, a expansão e o volume específico estão correlacionados positivamente com todos os ácidos avaliados, sendo essa correlação mais significativa com o ácido propiônico. Escobar e Molinari (1990) detectaram os ácidos láctico, acético e butírico em amostras de polvilho azedo e observaram ainda uma correlação positiva entre o teor destes e a capacidade de expansão.

As amostras das coletas 1 e 3 dos métodos de fermentação tradicional e modificada (T1, T3, M1 e M3) no PCA se apresentaram agrupadas do lado negativo de PC1 influenciadas principalmente pelo pH, variável com maior contribuição fatorial no primeiro componente, corroborando com os resultados observados e apresentados na Tabela 2, onde verifica-se que na coleta 3, de ambos os processos fermentativos, ocorreu um aumento de pH em relação a coleta anterior. Estas amostras foram ainda as que apresentaram os menores valores de expansão e volume específico apresentando-se mais distantes dos autovetores relacionados a estes parâmetros, enquanto que as amostras da coleta 5 da fermentação tradicional e da coleta 2 da fermentação modificada (T5 e M2) foram aquelas com maiores valores de volume específico (6,53 e 7,66 mg.L⁻¹, respectivamente) e índice de expansão (1,85 e 1,86, respectivamente).

Figura 1 - Análise de componentes principais (PCA) da quantificação de ácidos orgânicos e das propriedades de expansão de amostras de polvilho azedo durante a fermentação. M: fermentação modificada; T: fermentação tradicional; índices de 1 a 5: diferentes tempos de coleta de amostra.



Em relação aos coeficientes de correlação apresentados na Tabela 5, observa-se que a ATT está fortemente correlacionada com os ácidos acético e butírico ($r = 0,856$ e $0,887$, respectivamente, $p < 0,05$), demonstrando que apesar da prevalência do ácido láctico em amostras de polvilho azedo relatada na maioria dos trabalhos e de até alguns autores expressarem a ATT do polvilho azedo em % de ácido láctico (CADENA et al., 2006; DEMIATE et al., 1999), esse comportamento não foi observado no presente estudo.

Tabela 5 - Correlação linear de Pearson entre as concentrações de ácidos orgânicos e as propriedades de expansão em amostras de polvilho azedo.

	Lático	Acético	Propiônico	Butírico	pH	ATT	Expansão	VE
Lático	1,00							
Acético	-0,231	1,00						
Propiônico	0,522	0,223	1,00					
Butírico	0,136	0,779	0,589	1,00				
pH	-0,278	-0,726	-0,619	-0,736	1,00			
ATT	-0,070	0,856	0,578	0,887	-0,805	1,00		
Expansão	0,044	0,036	0,494	0,133	-0,069	0,262	1,00	
VE	-0,173	0,068	0,244	0,006	0,018	0,196	0,754	1,00

Números em negrito representam correlações significativas ($p < 0,05$). Lático: ácido lático; Acético: ácido acético; Propiônico: ácido propiônico; Butírico: ácido butírico; ATT: acidez total titulável; VE: volume específico.

A prevalência dos ácidos acético e butírico nas amostras de polvilho azedo obtidas neste estudo se justifica pela heterogeneidade na produção de ácidos orgânicos (DEMIATE et al., 1999) resultante do empirismo e dependência das condições climáticas comuns aos processos de fermentação e secagem do polvilho azedo.

A expansão e o volume específico também apresentaram uma correlação significativa (0,754), o que já era esperado, visto que essas propriedades possuem uma relação positiva. O volume específico é inclusive utilizado, por alguns autores, como parâmetro para classificação de polvilho azedo quanto à expansão (NUNES; CEREDA, 1994; MAEDA; CEREDA, 2001).

É interessante ressaltar ainda que a concentração de ácido láctico apresentou um coeficiente de correlação muito baixo com a propriedade de expansão (0,044), o que pode ser justificado pelas baixas concentrações deste nas amostras de polvilho azedo obtidas em laboratório, bem como pela teoria de que o ácido láctico produzido durante a fermentação não se encontra mais nessa forma após a secagem solar.

O mecanismo de modificação química do polvilho azedo, para compreensão do processo de expansão da massa durante o assamento, proposto por Marcon et al. (2009) a partir da associação de informações coletadas durante o seu trabalho descreve as seguintes características para os produtos envolvidos nesse processo: i) amido de mandioca nativo (polímeros de amilose e amilopectina em meio contendo grupos hidroxila e H livres); ii) amido de mandioca fermentado (amilose e amilopectina são parcialmente hidrolisadas, dextrinas de vários graus de polimerização são formadas nos grânulos, grupos hidroxila e carboxila são predominantes; e os grânulos são embebidos em uma condição ácida da fermentação láctica); iii) polvilho azedo seco ao sol (dextrinas de diversos graus de polimerização de formas novas e mais concentradas nas regiões cristalinas nos grânulos de polvilho azedo fermentados e secos ao sol (UV). Grupos carboxila e hidroxila disponíveis para formar ligações com H livres. Diminuição do pH, viscosidade intrínseca e

poder de inchamento. Aumento do fator ácido e volume específico), e iv) assamento (água é adicionada à formulação. Os grupos carboxilas e hidroxilas formam ligações com a água. A alta temperatura do forno produz vapor e outros materiais gasosos que forçam a massa a expandir. Uma estrutura alveolar é formada e a massa se expande devido à pressão dos gases retidos na rede polimérica ácido modificada de amilose, amilopectina e dextrinas. A maximização da expansão pode ser diretamente ou inversamente relacionada com algumas variáveis físico químicas).

Considerando a característica tecnológica de expansão verificada em amidos fermentados e secos ao sol ou previamente tratados com ácido láctico, secos ao sol ou expostos à radiação UV (NUNES; CEREDA, 1994; VATANASUCHART et al., 2005), no presente estudo a quantidade de ácido láctico não se apresentou diretamente proporcional ao poder de expansão das amostras de polvilho azedo.

Esses resultados demonstram a necessidade de um estudo mais aprofundado quanto aos ácidos orgânicos, além do ácido láctico no polvilho azedo como já fizeram diversos estudos, mas também na água da fermentação e dos outros ácidos, em condições mais próximas das aplicadas nas polvilharias; levando em consideração suas concentrações antes e após diferentes processos de secagem, a fim de analisar o comportamento dos mesmos ao longo das diferentes etapas da produção de polvilho azedo e suas relações com a propriedade de expansão do produto.

Uma visão mais abrangente do processo fermentativo, investigando não apenas o produto final (polvilho azedo), mas também as condições do processo e a água da fermentação, poderá contribuir para a geração de novas oportunidades para o setor produtivo do polvilho azedo.

4 CONCLUSÃO

As características físico-químicas das águas residuais da fermentação do amido de mandioca e do polvilho azedo resultantes desse processo comprovam que os sólidos presentes são derivados da decomposição do amido no processo fermentativo, em suas fases iniciais com produção de açúcares e incremento da acidez.

Os ácidos acético e butírico predominaram tanto nas águas quanto nos polvilhos azedos produzidos pelos métodos tradicional e modificado, em escala laboratorial, sendo a produção desses ácidos influenciada diretamente pelas temperaturas verificadas durante o processo fermentativo (de até 35 °C).

Os resultados da análise multivariada mostraram que a principal característica do polvilho azedo, a expansão, possui baixa correlação com os ácidos orgânicos presentes no amido fermentado. Os ácidos produzidos na fermentação do amido de mandioca são encontrados tanto no produto seco ao sol, quanto nas águas residuais, as quais podem representar importante oportunidade de novos produtos para o setor produtivo.

REFERÊNCIAS

AMANTE, E. R. **Proposições Metodológicas para a Minimização e Valorização de Resíduos de Fecularias e das Indústrias Processadoras de Aves, Suínos e Pescados do estado de Santa Catarina**. 1997. 178 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Produção) - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 1997.

AMPE, F.; SIRVENT, A.; ZAKHIA, N. Dynamics of the microbial community responsible for traditional sour cassava starch fermentation studied by denaturing gradient gel electrophoresis and quantitative rRNA hybridization. **International Journal of Food Microbiology**, v. 65, p. 45-54. 2001.

AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 16.ed., Gaithersburg, Maryland, 1999.

AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 18.ed. Gaithersburg, Maryland, 2005.

AQUINO, A.C.M.S.; AZEVEDO, M.S.; RIBEIRO, D.H.B.; COSTA, A.C.O.; AMANTE, E.R. Validation of HPLC and CE methods for determination of organic acids in sour cassava starch wastewater. **Food Chemistry**, v. 172, p. 725-730, 2015.

AQUINO, A.C.M.S.; PEREIRA, J.M.; WATANABE, L.B.; AMANTE, E.R. Standardisation of the sour cassava starch reduces the processing time by fermentation water monitoring. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, p. 1892-1898, 2013.

ASQUIERI, E.R. **Efeito da fermentação nas características da fécula de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) de três cultivares colhidas em diferentes épocas**. 1990. 109p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura de Lavras, Minas Gerais.

AVANCINI, S. R. P. **Caracterização físico-química, microbiológica e toxicológica das águas de fermentação do amido de mandioca na produção do polvilho azedo**. 2007. 104 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

AVANCINI, S. R. P.; FACCIN, G. L.; TRAMONTE, R.; ROVARIS, A. A.; PODESTA, R.; SOUZA, N. M. A. de; VIEIRA, M. A. ; AMANTE, E. R. Cassava starch fermentation wastewater: characterization and preliminary toxicological studies. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, p. 2273-2278, 2007.

BANGOU, O. **Etude des modifications physico-chimiques et des propriétés fonctionnelles de produits amylaces (maïs, manioc) au cours des procédés de fermentation traditionnels**. Montpellier, DESS Nutrition dans les pays en développement, CIRAD-CA-T/CER 95/2, Septembre 1995. 33p.

BRASIL. Resolução, n. 263 de setembro 2005. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, p. 368-369, 2005.

CADENA, M. P.; VILLARRAGA, E. C.; LUJÁN, D. E. Evaluacion de la agroindustria del almidon agrio de yuca (*Manihot esculenta Crantz*) em Cordoba y Sucre. **Temas Agrarios**, v. 11, n. 1, p. 43-53, 2006.

CÁRDENAS, O.S.; BUCKLE, T.S. Sour cassava starch production: a preliminary study. **Journal of Food Science**, v. 45, p. 1509-1512, 1980.

CARVALHO, E.P.; CANHOS, V.P.; RIBEIRO, V.E., CARVALHO, H.P. Polvilho Azedo: Aspectos físicos, químicos e microbiológicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 129-137, 1996.

CARVALHO, E. P.; CANHOS, V. P.; ASQUIERI, I.; VILELA, E. R.; CARVALHO, E. R. Determinacion de la flora microbiana de la fécula de yuca fermentada (polvilho azedo) durante las diferentes etapas de procesamiento. **Alimentaria**, v. 8, p. 97-103, 1999.

CASSONI, V.; CEREDA, M. P. Avaliação do processo de fermentação acética da manipueira. **Revista Energia na Agricultura**, v. 26, n. 4, p.101-113, 2011.

CAVALLET, L. E.; FERREIRA, S. M. R.; LIMA, J. J. de; TULLIO, L. T.; QUADROS, D. A. de. Ocorrência do processo de fixação biológica de N₂ atmosférico na fermentação de fécula de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 522-526, 2006.

CEREDA, M. P. Avaliação da qualidade de duas amostras de fécula fermentada de mandioca (polvilho azedo). **Boletim do SBCTA**, v. 17, n. 3, p. 305-320, 1983.

CEREDA, M. P. **Alguns aspectos sobre a fermentação da fécula de mandioca**. 1973. 89f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP. 1973.

CEREDA, M. P.; CATÂNEO, A. Avaliação de parâmetros de qualidade da fécula fermentada de mandioca. **Revista Brasileira da Mandioca**, v. 5, n. 1, p. 55-62, 1986.

CEREDA, M. P.; BONASSI, I. A.; LIMA, V. de A.; WOSIACKI, G. **Ensaio de fermentação de fécula de mandioca utilizando substrato**

esterilizado com brometo de metila. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE FERMENTAÇÃO. 1982, Viçosa. Anais... Viçosa, 1982.

CEREDA, M. P.; VILPOUX, O.; DEMIATE, I.M. Amidos modificados. In: CEREDA, M. P., VILPOUX, O. F. **Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas latino americanas.** São Paulo: Fundação Cargill, 2003. Cap.12. p. 246-332.

CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. Polvilho azedo, critérios de qualidade para uso em produtos alimentares. In: Fundação Cargill. **Culturas de tuberosas amiláceas latino americana.** São Paulo, 2002. v. 4, cap. 13, p. 333-355.

CEREDA, M.P. Tecnologia e qualidade do polvilho azedo. **Informe Agropecuário**, v. 13, n. 145, p.63-68, 1987.

CEREDA, M. P. **Polvilho azedo, critérios de qualidade para uso em produtos alimentares.** In: CEREDA, M., P.; VILPOUX, O. Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americanas. São Paulo: Fundação Cargill, 2003. p.333-354.

DAMASCENO, S.; CEREDA, M. P.; PASTORE, G. M.; OLIVEIRA, J. G. Compostos de aroma por *Geotrichum fragans* cultivado em manipueira. In: CEREDA, M. P. (Ed.). **Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca.** São Paulo: Fundação Cargill, 2001. v. 4, p. 96-106.

DAMASCENO, S.; CEREDA, M. P.; PASTORE, G. M.; OLIVEIRA, J. G. Production of volatile compounds by *Geotrichum fragans* using cassava wastewater as substrate. **Process Biochemistry**, v.39, p.411-414, 2003.

DEMIATE, I. M., BARANA, A. C., CEREDA, M. P., WOSIACKI, G. Organic acid profile of commercial sour cassava starch. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n.1, p.131-135, 1999.

DEMIATE, I. M.; CEREDA, M. P. Some physico-chemical characteristics of modified cassava starches presenting baking property. **Energia na Agricultura**, v. 15, n. 3, p. 36-46, 2000.

DIAS, A. R. G.; ELIAS, M. C.; OLIVEIRA, M.; HELBIG, E. Oxidação dos amidos de mandioca e de milho comum fermentados: desenvolvimento da propriedade de expansão. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 794-799, 2007.

DINIZ, I. P. **Caracterização tecnológica do polvilho azedo produzido em diferentes regiões do estado de Minas Gerais**. 2006. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

ESCOBAR, C. A.; MOLINARI, J. **Obtención de parámetros para la evaluación de la calidad de un almidón agrio de yuca**. 1990. (Tesis de grado). Universidad del Valle, Cali, 1990.

FIGUEROA, C.; DAVILA, A. M.; POURQUIÉ, J. Lactic acid bacteria of the sour cassava starch fermentation. **Letters in Applied Microbiology**, v. 21, p. 126-130, 1995.

FIGUEROA, C.; DAVILA, A. M.; POURQUIÉ, J. Original properties of ropy strains of *Lactobacillus plantarum* isolated from the sour cassava starch fermentation. **Journal of Applied Microbiology**, v. 82, p. 68-72, 1997.

KANDLER, O.; WEISS, M. Genus *Lactobacillus*. In: SNEATH, P. H. A., MAIR, N. S., SHARPE, M. E. (Ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986. v. 2, Section 14, p. 1208-1234.

LACERDA, I. C. A.; MIRANDA, R. L.; BEATRIZ, M.; BORELLI, A.; NUNES, A. C.; NARDI, R. M. D.; LACHANCE, M.; ROSA, C. A. Lactic acid bacteria and yeasts associated with spontaneous fermentations during the production of sour cassava starch in Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 105, p. 213-219, 2005.

LEONEL, M.; CEREDA, M. P. Manipueira como substrato na biossíntese de ácido cítrico por *Aspergillus niger*. **Scientia Agricola**, v. 52, n. 2, p. 299-304, 1995.

MAEDA, K. C.; CEREDA, M. P. Avaliação de duas metodologias de expansão ao forno do polvilho azedo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 2, p. 139-143, 2001.

MAEDA, K.C. **Proposta de classificação para o polvilho azedo**. 1999. 95p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, São Paulo.

MARCON, M. J. A. **Efeito do processo fermentativo pelo método tradicional e com adição de glicose, sobre a qualidade do polvilho azedo**. 2004. 126 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

MARCON, M. J. A.; KURTZA, D. J.; RAGUZZONI, J. C.; DELGADILLO, I.; MARASCHIN, M.; SOLDI, V.; REGINATTO, V.; AMANTE, E. R. Expansion properties of sour cassava starch (polvilho azedo): variables related to its practical application in bakery. **Starch/Stärke**, v. 61, p. 716-726, 2009.

MARCON, M. J. A.; VIEIRA, M. A.; SANTOS, K.; DE SIMAS, K. N.; AMBONI, R. D. M. C.; AMANTE, E. R. The effect of fermentation on cassava starch microstructure. **Journal of Food Process Engineering**, v. 29, p. 362-372, 2006.

MARÓSTICA JÚNIOR, M. R. **Biotransformação de terpenos para a produção de compostos de aroma e funcionais**. 2006. 182p. Tese (Doutor em Engenharia de Alimentos/Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, p. 426-428, 1959.

NITSCHKE, M. M.; PASTORE, G.M. Cassava flour wastewater as a substrate for biosurfactante production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 106, p. 295-302, 2003.

NUNES, O.L.G.S.; CEREDA M. P. **Metodologia para avaliação da qualidade de fécula fermentada de mandioca (polvilho azedo)**. In: Congresso Brasileiro de Mandioca, Salvador, 1994.

OMAR, N. B.; AMPE, F.; RAIMBAULT, M.; GUYOT, J. P.; TAILLIEZ, P. Molecular diversity of lactic acid bacteria from cassava sour starch (Colombia). **Systematic and Applied Microbiology**, v. 23, p. 285-291, 2000.

PARADA, J. L.; FABRIZIO, S. V.; MARTINEZ, A. Microbiological and technological aspects of cassava-starch fermentation. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v.12, n.1, p.53-56, 1996.

PEREIRA, R. G. F. A. **Avaliação da qualidade do polvilho durante a fermentação em diferentes meios, com e sem adição de inóculos**. 1994. 86p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1994.

REGINATTO, V.; KURTZ, D.; MARCON M. J. A.; XAVIER J. J. M.; SCUSSEL, V. M.; AMANTE, E. R. **Modificação do Processo de Produção de Polvilho Azedo Visando o Aumento na Concentração de Ácidos Orgânicos na Água Residuária**. 2º International Workshop Advances in Cleaner Production. São Paulo, 2009.

SILVA, G. O.; TAKIZAWA, F. F.; PEDROSO, R. A.; FRANCO, C. M. L.; LEONEL, M.; SARMENTO, S. B. S.; DEMIATE, I. M. Características físico-químicas de amidos modificados de grau alimentício comercializados no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 188-197, 2006.

SILVEIRA, I. A.; CARVALHO, E. P.; PADUA, I. P. M.; DIONIZIO, F. L. Isolamento e caracterização da microbiota ácido láctica envolvida no processo fermentativo para produção de polvilho azedo – parte II. **Pro Homine**, v. 2, n. 2, p. 7-15, 2003.

VATANASUCHART, N.; NAIVIKUL, O.; CHAROENREIN, S.; SRIROTH, K. Molecular properties of cassava starch modified by different UV irradiations to enhance baking expansion. **Carbohydrate Polymers**, v. 61, p. 80-87, 2005.

CAPÍTULO 5

Avaliação do processo produtivo de polvilho azedo em polvilharias de Santa Catarina

Avaliação do processo produtivo de polvilho azedo em polvilharias de Santa Catarina

RESUMO

O polvilho azedo apresenta um sabor típico, com características diferentes do amido nativo de mandioca. É utilizado, por exemplo, na produção de biscoitos e de pães de queijo, produtos de grande aceitação sensorial no Brasil. É regional e de preparo artesanal, fabricado por indústrias rurais de pequeno porte. A sua produção está localizada em microrregiões produtoras dos estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul. Nas últimas décadas os polvilhos perderam mercados nacionais devido, principalmente, à falta de padrão de suas características tecnológicas, bem como pela substituição deste amido naturalmente modificado por amidos modificados, tais como amido oxidado e amido modificado por ácido. O presente trabalho teve como objetivo avaliar as condições do processo produtivo de polvilho azedo em polvilharias de Santa Catarina e caracterizar as amostras coletadas nessas unidades. Os resultados confirmaram a falta de padronização envolvida nas etapas da produção do polvilho azedo, sendo que a fermentação (quantidade de água, tempo de processo, uso de inóculo, tipo de tanque, critério para estabelecimento do final do processo) e a secagem (dependência das condições climáticas e contaminações físicas) são as mais críticas para a qualidade do produto final. Realidade comprovada através das diferenças nas características físico-químicas, na quantificação dos ácidos orgânicos das amostras de água de fermentação e do produto, bem como nas propriedades de pasta e propriedades de expansão dos polvilhos azedos estudados.

Palavras-chave: Polvilho azedo, Fermentação, Água de fermentação de amido de mandioca, Secagem solar, Propriedade de expansão

Evaluation of the sour cassava starch productive processing on factories of Santa Catarina State

ABSTRACT

The sour cassava starch has a typical taste, with different characteristics of native cassava starch. It is used in the production of biscuits and cheese breads, products with great sensory acceptance in Brazil. It is a regional product involving an artesanal preparation, produced by small rural factories. Its production is located in producing micro-regions in the states of Sao Paulo, Parana, Santa Catarina, Minas Gerais and Mato Grosso do Sul. In recent decades the sour cassava starch lost national markets due mainly to the lack of standardization of its technological characteristics and by the substitution with modified starches such as oxidized starch and starch modified by acid. This study aimed to evaluate the conditions of the production process of sour cassava starch in factories of Santa Catarina and characterize the samples collected. The results confirmed the lack of standardization in the steps involved in the production of sour cassava starch. Fermentation (amount of water, processing time, use of inoculum, tank type and criterion for the end of the setting process) and drying (climatic conditions and physical contaminants) are most critical for the quality of the final product. This reality was proved by the differences in the physical and chemical characteristics, the quantification of organic acids from water fermentation and product samples, as well as the paste properties and expansion properties of sour cassava starches analyzed.

Keywords: Sour cassava starch, Fermentation, Cassava starch fermentation water, Expansion property

1 INTRODUÇÃO

O polvilho azedo é um produto regional e de preparo artesanal obtido pela fermentação do amido de mandioca seguido de secagem ao sol, proporcionando características distintas do amido de mandioca nativo (MAEDA; CEREDA, 2001). A produção é realizada principalmente por pequenas e médias empresas através de um processo empírico de fermentação e secagem naturais, sem controle e dependentes substancialmente das condições climáticas, resultando em um produto desuniforme, com problemas de contaminação e muitas vezes com indesejáveis características tecnológicas (CEREDA; NUNES; VILPOUX, 1995; CIACCO; CRUZ, 1982; WESTBY; CEREDA, 1994). No Brasil, a sua produção está localizada em microrregiões produtoras dos estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul. Suas características como ser um produto livre de glúten e que expande durante o assamento sem o uso de fermento, adicionalmente às propriedades sensoriais únicas, justificam o seu emprego em inúmeros produtos de panificação.

As condições em que se desenvolve a fermentação natural de polvilho azedo são: substrato formado exclusivamente por amido granular, como fonte de carbono para os micro-organismos; meio quase sólido formado pela decantação do amido no tanque e, conseqüentemente, condições anaeróbias no meio, que se estabelecem nos primeiros cinco dias. O polvilho deve permanecer nos tanques de fermentação sob uma camada de água, que no início chega a 20 cm e vai reduzindo com o passar do tempo. As características tanto dos grânulos de amido, quanto das variedades de raízes, condições microbiológicas de cultivo e demais fatores influenciam significativamente no tempo de fermentação o qual pode variar entre três e sessenta dias (CÁRDENAS; BUCKLE, 1980; RIVERA, 1997; SILVEIRA et al., 2003).

A fermentação do amido de mandioca para obtenção do polvilho azedo é um processo espontâneo, desenvolvido por diversos micro-organismos naturalmente presentes na matéria prima, na água e

nos tanques de fermentação. Esta característica explica a grande variação, encontrada na qualidade do polvilho azedo proveniente de diversos produtores, ou de um mesmo produtor. As diferentes condições climáticas brasileiras definem a microbiota predominante nos processos fermentativos, fazendo com que polvilhos produzidos em diferentes regiões apresentem diferenças relacionadas com a acidez e a composição de ácidos orgânicos (SILVEIRA et al., 2003).

Grande parte dos trabalhos publicados sobre polvilho azedo centralizam as atenções sobre este produto e negligenciam as propriedades das águas sobrenadantes do processo fermentativo. Apesar das condições empíricas de processamento, o desenvolvimento do setor, requer futura regularização do processo produtivo, o que será possível a partir da análise de cenários e conhecimento das condições de produção do polvilho azedo. O presente trabalho teve como objetivo avaliar as condições do processo produtivo de polvilho azedo em polvilharias do estado de Santa Catarina, bem como caracterizar as amostras de águas de fermentação e de polvilho azedo coletadas nessas unidades visando uma futura intervenção para maior padronização, e consequente valorização, do processo como também do produto.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 AMOSTRAS

Foram coletadas sete amostras de águas sobrenadantes de tanques de fermentação de amido de mandioca e oito amostras de polvilho azedo de polvilharias localizadas no estado de Santa Catarina no período de julho de 2013 a julho de 2014. Durante as coletas nas cidades de Azambuja, São João do Sul, Santa Rosa do Sul, Treze de Maio, Sombrio, São Bonifácio e São Martinho, os responsáveis pelas polvilharias, no momento da visita, responderam a um questionário e forneceram algumas informações quanto à matéria prima e às condições do processo fermentativo (tipo de tanque, quantidade de água utilizada,

reposição de água, uso de inóculo, critério para o estabelecimento do final da fermentação, tempo de fermentação das amostras coletadas). É importante ressaltar que nem todas as nove polvilharias visitadas tinham água de fermentação e/ou polvilho azedo para coleta no momento da visita.

2.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

2.2.1 Águas de fermentação

O teor de sólidos totais foi determinado por gravimetria. Amostras das águas coletadas dos tanques de fermentação foram homogeneizadas e retiradas alíquotas de 10 mL para placa de Petri previamente seca e tarada. As amostras foram evaporadas em estufa com circulação marca Fabbe, São Paulo, a 60 °C até peso constante. O percentual de sólidos totais foi determinado em função do volume da alíquota empregado.

O pH foi determinado diretamente na água de fermentação, utilizando potenciômetro (marca Quimis, modelo Q400A, Diadema, Brasil). A acidez total titulável (ATT) foi determinada através do método da AOAC (2005) e o resultado foi calculado pelo volume (mL) gastos de NaOH 0,1 mol L⁻¹ na titulação de 10 mL de amostra de água sobrenadante x fator de correção da solução de NaOH.

Os sólidos solúveis totais (°Brix) foram determinados com a utilização de um refratômetro digital portátil (Quick-Brix™ 90, Columbus, Ohio, Estados Unidos).

A análise de resíduo mineral fixo (AOAC 940.26) foi realizada de acordo com os métodos recomendados pela *Association of Official Analytical Chemists* - AOAC (2005).

O teor de açúcares redutores foi determinado pelo método espectrofotométrico do ácido 3, 5 dinitrosalicílico (DNS) (MILLER, 1959).

2.2.2 Polvilho azedo

O pH foi determinado por leitura direta do líquido sobrenadante, após mistura de 10 g da amostra em 100 mL de água destilada utilizando o potenciômetro (marca Quimis, modelo Q400A, Diadema, Brasil). A acidez titulável por titulação de NaOH 0,1 mol L⁻¹ até atingir pH 8,2 a 8,3, utilizando solução alcoólica de fenolftaleína para determinação da mudança de cor e foi expressa em mL de NaOH 1 mol L⁻¹ por 100 g de matéria seca. A análise de umidade foi realizada de acordo com o método 935.29 da AOAC, através de secagem em estufa a 105 °C (AOAC, 1999) e a análise de resíduo mineral fixo se procedeu de acordo com o método AOAC 940.26 (AOAC, 2005).

2.3 PROPRIEDADES DE EXPANSÃO DAS AMOSTRAS DE POLVILHO AZEDO

Para proceder com as análises do polvilho azedo, a fim de avaliar suas propriedades de expansão, foram confeccionados biscoitos através da formulação proposta por Nunes e Cereda (1994), onde se misturou 50 g de polvilho azedo com 40 mL de água fervente. A massa foi modelada em cinco biscoitos redondos de aproximadamente 10 g cada, os quais foram distribuídos em assadeira e levados ao forno elétrico termostatizado a temperatura de 200 °C, por 25 minutos.

O índice de expansão foi determinado através do método proposto pelo CERAT - Centro de Raízes Tropicais (MAEDA; CEREDA, 2001). Onde o diâmetro médio dos biscoitos foi medido com paquímetro digital (marca Lee Tools, China) antes e após o forneamento.

Os biscoitos depois de assados e resfriados foram pesados e avaliados pelo método de deslocamento de sementes de painço em copo de Becker, sendo as sementes deslocadas medidas em proveta. O resultado da razão entre o valor das sementes deslocadas e o peso dos biscoitos após o forneamento foi expresso em volume específico (mL g⁻¹

¹⁾ (PIZZINATTO; CAMPAGNOLLI, 1993). O volume específico das amostras foi comparado aos parâmetros de expansão estabelecidos por Nunes e Cereda (1994) para classificar a expansão do polvilho azedo em pequena ($\leq 5 \text{ mL g}^{-1}$), média (de 5 a 10 mL g^{-1}) e grande ($\geq 10 \text{ mL g}^{-1}$).

O resultado da razão entre o peso dos biscoitos após o forneamento e o valor do deslocamento das sementes foi expresso em densidade específica (g mL^{-1}).

2.4 PROPRIEDADES DE PASTA

Foram determinadas utilizando o analisador rápido de viscosidade (RVA - *Rapid Visco Analyser 4000* - Perten Instruments), através do software *Thermocline for Windows*, onde 2,5 g de amostra foram dispersos em 25 g de água, com correção para 14% de umidade. A programação utilizada foi um tempo total de corrida de 13 minutos, iniciando com temperatura de 50 °C mantida por 1 minuto, aquecimento até 95 °C por 6 minutos, seguido de resfriamento até 50 °C por 6 minutos. A rotação iniciou em 960 rpm por 10 segundos e diminuiu para 160 rpm no decorrer da análise. A partir dos amilogramas obtidos foram avaliadas as seguintes características: viscosidade máxima (RVU), *breakdown* ou quebra (RVU), viscosidade final (RVU), *setback* ou tendência à retrogradação (RVU) e temperatura de pasta (°C).

2.5 DETERMINAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS

2.5.1 Preparo de amostras

Como nas águas de fermentação do amido de mandioca os ácidos orgânicos se encontram solubilizados, as amostras foram apenas filtradas em membrana de politetrafluoretileno (PTFE) de $0,22 \text{ }\mu\text{m}$ (Allcrom, São Paulo, Brasil) e diluídas com solução de padrão interno

(9:1, v/v, amostra:PI a 250 mg L⁻¹) para posterior injeção no equipamento de eletroforese capilar (EC).

Para análise das amostras de polvilho azedo, as mesmas foram preparadas de acordo com Demiate et al. (1999), sendo que 15g foram suspensas em 30 mL de solução de ácido sulfúrico 0,005 mol L⁻¹ por um período de 24 horas em temperatura ambiente com agitação ocasional. Essas suspensões foram centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos e a 6000 rpm por 20 minutos e em seguida filtradas em membrana de politetrafluoretileno (PTFE) de 0,22 µm (Allcrom, São Paulo, Brasil) para posterior injeção no equipamento de EC.

2.5.2 Sistema de eletroforese capilar

Os experimentos foram conduzidos, de acordo com Aquino et al. (2015), em um sistema de eletroforese capilar (modelo 7100, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, E.U.A.), equipado com detector de arranjo de diodos (DAD) e sistema de refrigeração por circulação de ar. O *software* HP ChemStation, rev A.06.01 foi utilizado para aquisição e tratamento de dados. O eletrólito de corrida na proporção 20 mmol L⁻¹ de ácido benzóico, 25 mmol L⁻¹ de BIS-TRIS e 0,2 mmol L⁻¹ de CTAB foi preparado por pesagem direta de 24,4 mg de ácido benzóico e 52,4 mg de BIS-TRIS e adição de 200 µL de solução de CTAB 100 mmol L⁻¹ em um volume de 10 mL de solução, resultando em pH 5,8 diretamente, não havendo necessidade de ajuste de pH sendo armazenado sob refrigeração durante o uso.

A separação dos analitos foi realizada com injeção hidrodinâmica, pressão de 50 mbar por 3 segundos, tensão aplicada de 30 kV, com polaridade negativa, detecção realizada no modo indireto com aquisição de sinal a 230 nm e pré-condicionamento entre corridas de 60 s. O comprimento do capilar de sílica utilizado foi de 48,5 cm (efetivo 40 cm) e 50 µm de diâmetro interno a temperatura de 25 °C.

Todas as análises foram realizadas em triplicata ($n=3$) e os resultados expressos como média e desvio padrão.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 INFORMAÇÕES OBTIDAS DURANTE A COLETA DE AMOSTRAS

A densidade de polvilharias em Santa Catarina vem reduzindo ano a ano; enquanto na década de noventa, as regiões do Alto Vale do Itajaí e do sul de Santa Catarina apresentavam a mesma densidade por área, hoje em Rio do Sul, Ibirama, Agrolândia, Agronômica, Trombudo Central e outras cidades do Alto Vale, estão encerrando as suas atividades, ou há um número insignificante de empresas sobreviventes. Por isso, as polvilharias avaliadas estão localizadas ao leste e ao sul do estado de Santa Catarina, sendo que essa última tem destaque pelo número de polvilharias ainda em produção, principalmente nas cidades de São João do Sul, Santa Rosa do Sul e Sombrio. De acordo com a EPAGRI (2013), no período de janeiro a agosto de 2013, as vendas catarinenses de farinha de mandioca, amido de mandioca e polvilho azedo atenderam à expectativa dos segmentos de produção e comercialização, sendo destinadas ao mercado interno e a outros estados como Rio Grande do Sul, São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro. Ainda nesse período, os preços da raiz de mandioca foram incrementados em 61% durante a colheita, ao contrário de 2012, o que se deveu a uma valorização dos derivados, como a farinha fina que aumentou 80%, a farinha grossa 78,7%, o amido 49,6% e o polvilho azedo 33,9%.

A Tabela 1 apresenta as informações fornecidas pelos responsáveis de polvilharias de Santa Catarina durante a coleta de amostras quanto à matéria prima e condições do processo fermentativo do amido de mandioca.

Tabela 1 - Informações fornecidas pelos responsáveis de polvilharias de Santa Catarina durante a coleta de amostras quanto à matéria prima e condições do processo fermentativo de amido de mandioca.

Polvilharias	Cidade	Matéria prima	Ambiente dos tanques	Tipo de tanques	Volume tanque (m ³)	Quantidade de água no início do processo fermentativo / Reposição de água e justificativa em caso positivo.	Faz uso de inóculo? Qual?	Qual o critério para o final da fermentação?	Qual o tempo de fermentação médio dos tanques até a data da visita?
P1	São Bonifácio	Amido obtido pela empresa	Coberto	aberto / madeira revestida com lona	0,46	90 a 100L por tanque / Não	Não, mas as lonas que recobrem os tanques ficam sujas da fermentação anterior.	Cheiro.	4 dias
P2	São Bonifácio	Amido obtido pela empresa	Coberto	aberto / madeira sem revestimento	0,35	Até 10 cm na superfície / Sim, se o nível baixar muito.	Não, mas os tanques são de madeira sem revestimento.	Aparecimento de bolhas.	14 dias
P3	São Martinho	Amido obtido pela empresa	Coberto	fechado com lona / madeira revestida com lona	0,50	Até 15 cm na superfície / Sim, se o nível baixar muito.	Não.	Teste da rosca de polvilho (expansão) e cheiro.	30 dias
P4	Treze de Maio	Amido obtido pela empresa (utiliza o amido úmido, sem secagem).	Coberto	aberto / revestimento cerâmico	15	Até 3 cm na base do tanque e 12 cm na superfície / Não	Sim, alterna amido e polvilho azedo nos tanques quando quer acelerar o processo. No dia da visita os tanques em fermentação estavam apenas com amido e água.	Inchamento da massa no tanque e redução total do volume de água (6 a 8 meses).	12 meses
P5	São João do Sul	Amido comercial	Coberto	fechado com lona / revestimento cerâmico	15	Até 5 a 10 cm na superfície / Sim, quando verifica o inchamento da massa.	Sim, 300 kg de polvilho azedo/tanque	Teste da rosca de polvilho (expansão).	60 dias
P6	Santa Rosa do Sul	Amido comercial	Coberto	fechado com lona / revestimento cerâmico	15	Até 10 cm na superfície / Não	Sim, 2 práticas: a) 10% de polvilho azedo como inóculo quando quer acelerar a produção e b) apenas amido e água.	Teste da rosca de polvilho (expansão). Em média 90-120 dias até a secagem.	7,5 meses
P7	Sombrio	Amido obtido pela empresa	Coberto	aberto / sem revestimento cerâmico	NI	NI / Sim, se o nível baixar muito	Polvilho azedo da safra anterior.	60 dias.	60 dias
P8	Santa Rosa do Sul	Amido obtido pela empresa	Coberto	fechado com lona / revestimento cerâmico	15	Coloca o leite do amido direto no tanque / Não	Polvilho azedo da safra anterior.	90 dias (sem inóculo) e 40 dias (com inóculo)	30 dias
P9	Pedras Grandes	Amido obtido pela empresa	Coberto	fechado com lona / revestimento cerâmico	45	Até 20 cm na superfície / Sim, se o nível baixar muito.	Polvilho azedo da safra anterior.	Teste da acidez na boca (um pouco de água na língua) Teste da rosca de polvilho (expansão)	11 meses

*NI: não informado

Os produtores de polvilho azedo têm a opção da utilização da suspensão do amido recém extraído da raiz ou do amido comercial. Quanto à matéria prima utilizada no processo fermentativo, apenas duas das polvilharias (P2 e P3) fazem uso do amido comercial, as demais utilizam o amido de mandioca obtido na própria unidade.

Todos os tanques de fermentação estavam sob ambientes cobertos, sendo que em 44,44% das polvilharias os mesmos eram mantidos abertos durante o processo fermentativo, enquanto os demais eram cobertos com lona preta impermeável. Os tipos de tanques encontrados durante as visitas (Figura 1) foram: de alvenaria com e sem revestimento cerâmico, e de madeira com e sem revestimento de lona; com capacidade variando de 0,35 a 45 m³.

Em relação à quantidade de água utilizada no início da fermentação, foi observado mais uma vez o empirismo envolvido nesse processo, sendo informado pela maioria como água suficiente até atingir uma camada variando de 3 a 20 cm sobre o amido. A polvilharia P8 adota uma prática diferente das demais, pois o amido produzido pela mesma segue diretamente para o tanque de fermentação na forma de “leite de amido” (suspensão água amido), não sendo necessário adicionar mais água segundo o produtor. Quanto à reposição de água ao longo da fermentação, 55,55% afirmaram realizá-la quando observam que o nível baixou muito ou através da verificação do inchamento da massa de amido no tanque.

Figura 1 - Exemplos de tanques de fermentação de amido de mandioca encontrados durante as visitas para coleta de amostras em polvilharias de Santa Catarina.



Fonte: Acervo do autor

O uso de inóculo, no caso polvilho azedo da safra anterior, fica limitado ao interesse em acelerar ou não a produção e a maioria dos produtores não soube informar de maneira precisa a quantidade utilizada.

O estabelecimento do final da fermentação, de extrema importância para a qualidade final do produto, reforça a falta de padronização envolvida na produção do polvilho azedo. Os critérios adotados pelos produtores são: inchamento da massa no tanque, teste da rosca (expansão do produto), cheiro, aparecimento de bolhas, teste da acidez da água sobrenadante, dias de fermentação (variando de quarenta dias a oito meses). A procura do polvilho azedo pelo consumidor é

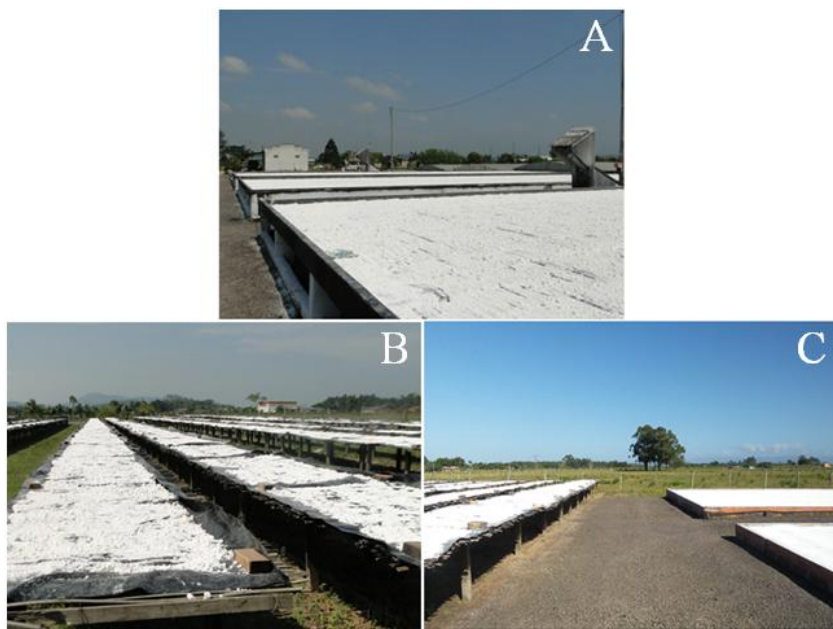
devido à sua utilização em produtos de confeitaria como biscoitos, sequilhos, pão de queijo, bolos, etc. (MAEDA; CEREDA, 2001). Isso se deve por ser um produto muito leve e volumoso, resultado da expansão apresentada sob aquecimento em forno. A confecção do biscoito de polvilho é, até o momento, o teste de qualidade mais realizado por todos, usuários e produtores, para verificação da capacidade de expansão.

Os tempos médios de fermentação até o momento das visitas foram de quatro dias a doze meses, essa variação foi atribuída por alguns produtores à dependência que esse processo possui com as condições climáticas (posterior etapa de secagem ao sol), e sendo Santa Catarina um estado que apresenta um clima com bastante instabilidade ao longo do dia, o amido fermentado pode permanecer nos tanques por períodos mais prolongados, como observado na polvilharia P1, que apresentava tanques com até 12 meses de fermentação.

A secagem do polvilho azedo é tradicionalmente realizada ao sol seja por sistemas de barcaças (as mesmas utilizadas nas secagens de café e cacau - Figura 2A) ou sobre jiraus cobertos com lonas pretas (Figura 2B), algumas polvilharias fazem uso dos dois sistemas de secagem (Figura 2C).

A secagem ao sol representa um dos pontos críticos de controle da produção de polvilho azedo, pois a mesma ocasiona uma série de problemas como a elevada contaminação por poeira, insetos e seus fragmentos e demais sujidades, além da falta de padrão nos produtos (diferentes umidades). Além disso, tem o elevado custo de mão de obra que exige a secagem em jiraus, método mais utilizado nas polvilharias de Santa Catarina, pois envolve um trabalho em duplas, um de cada lado do jirau, esfarelando o polvilho entre as mãos. Nos sistemas de barcaças, a mureta baixa de alvenaria facilita a contaminação por poeira e detritos soprados pelo vento, e quanto à mão de obra, neste caso, são necessários funcionários para revolver o polvilho com o auxílio de um rodo com a borracha cortada em formato de dentes largos.

Figura 2 - Exemplos de processos de secagem de polvilho azedo encontrados durante a visita para coleta de amostras em polvilharias de Santa Catarina (A) sistema de barcaças (B) sobre jiraus cobertos com lonas pretas e (C) uso das duas práticas.



Fonte: Acervo do autor

A secagem ao sol do amido fermentado, em camadas finas, requer grandes áreas, além da mão de obra e demais inconvenientes relativos à padronização e higiene do produto. No entanto, a radiação ultravioleta é indispensável para a finalização do processo produtivo do polvilho azedo. Apesar de alguns trabalhos publicados confirmarem a possibilidade de secagem em lâmpada UVC (BHAT; KARIM, 2009; GARCIA; LEONEL, 2005; MACHADO et al., 2012; VATANASUCHART et al., 2003; VATANASUCHART et al., 2005), até hoje nenhum sistema de secagem foi construído, sendo que a secagem ao sol é praticada por todas as empresas no Brasil, bem como nos demais países produtores de polvilho azedo.

Na Tabela 2 estão apresentadas as temperaturas máximas e mínimas das cidades onde estão localizadas as polvilharias, durante o período referente ao processo de fermentação das amostras coletadas. Foram verificadas as seguintes temperaturas: mínima de 10 °C em São João do Sul e máxima de 24 °C em Pedras Grandes

Tabela 2 - Temperaturas máximas e mínimas das cidades de Santa Catarina onde foram realizadas as coletas das amostras.

Polvilharias	Cidade	Mínima (°C)	Máxima (°C)
P1	São Bonifácio	11	18
P2	São Bonifácio	11	18
P3	São Martinho	11	18
P4	Treze de Maio	15	21
P5	São João do Sul	10	18
P6	Santa Rosa do Sul	16	22
P7	Sombrio	15	20
P8	Santa Rosa do Sul	15	20
P9	Pedras Grandes	18	24

*valores referentes ao período da fermentação das amostras coletadas. Médias das temperaturas mínimas e máximas registradas nos últimos 30 anos.

Fonte: Climatempo/ Instituto Nacional de Meteorologia (INMET)/ Climate Forecast System (CFS), 2015.

3.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

3.2.1 Águas de fermentação

Das nove polvilharias visitadas, em sete delas foram coletadas águas de fermentação (apenas aquelas que apresentavam pH entre 3 e 4 no dia da coleta). De acordo com a Tabela 3, as amostras de água de fermentação coletadas em polvilharias de Santa Catarina apresentaram valores entre 1,67 e 13,53 mL de NaOH 0,1 mol L⁻¹/10 mL de ATT com

o maior valor observado para a polvilharia P6 com 225 dias no tanque de fermentação.

Aquino et al. (2013) acompanhando a fermentação de amido de mandioca, realizada em condições laboratoriais, encontraram nas águas sobrenadantes valores máximos de ATT (mL de NaOH 0,1 mol L⁻¹/10 mL) de 5,08 em 85 dias de fermentação tradicional e 4,67 em 75 dias de fermentação modificada (com adição de glicose). Avancini (2007) observou valores de acidez variando de 2,11 a 6,85 mL de NaOH 0,1 mol L⁻¹/10 mL de água sobrenadante em processos fermentativos com amidos de mandioca de diferentes origens e épocas do ano, após 17 e 30 dias de fermentação, respectivamente.

Os valores de pH ficaram entre 3,44 e 3,91, enquanto que os sólidos totais (g 100mL⁻¹) variaram de 0,14 a 0,52, os quais são superiores aos encontrados por Aquino et al. (2013) (0,04 a 0,21) em águas sobrenadantes da fermentação de amido de mandioca. Enquanto que Avancini (2007) e Avancini et al. (2007) encontraram valores de 0,17 a 0,60 g 100mL⁻¹ e 0,22 g 100mL⁻¹, respectivamente, nas águas de fermentação de amidos de mandioca de diferentes regiões de Santa Catarina e de um *blend* de amidos de mandioca comerciais, ambos fermentados pelo método modificado (com adição de 0,5% de glicose).

Tabela 3 - Caracterização físico-química de amostras de águas de fermentação de amido de mandioca coletadas em polvilharias do estado de Santa Catarina no período de julho de 2013 a julho de 2014.

Polvilharias	Tempo no tanque de fermentação (dias)	ATT (mL de NaOH 0,1 mol L ⁻¹ /10mL)	pH	Sólidos Totais (g 100mL ⁻¹)	Cinzas (mg 100mL ⁻¹)	Açúcares Redutores (mg 100mL ⁻¹)	SST (°Brix)
P1	7	1,99 ± 0,06	3,76 ± 0,01	0,52 ± 0,00	25,76 ± 2,90	23,35 ± 1,14	0,43 ± 0,06
P2	14	1,67 ± 0,03	3,70 ± 0,01	0,39 ± 0,01	44,97 ± 5,39	18,90 ± 0,17	0,23 ± 0,06
P3	30	4,81 ± 0,07	3,91 ± 0,01	0,41 ± 0,01	39,08 ± 2,47	17,51 ± 0,61	0,40 ± 0,00
P4	40	7,80 ± 0,06	3,44 ± 0,01	0,17 ± 0,01	39,83 ± 2,16	14,76 ± 0,07	0,73 ± 0,06
P5	80	2,88 ± 0,23	3,90 ± 0,01	0,14 ± 0,01	19,39 ± 0,81	6,91 ± 0,03	0,50 ± 0,00
P6	225	13,53 ± 0,06	3,49 ± 0,01	0,49 ± 0,02	121,55 ± 19,20	142,17 ± 0,67	1,40 ± 0,10
P9	330	11,45 ± 0,06	3,46 ± 0,02	0,48 ± 0,02	64,40 ± 5,18	57,54 ± 0,33	1,13 ± 0,06

Média ± Desvio Padrão.

ATT: acidez total titulável; SST: sólidos solúveis totais.

Os teores de cinzas ficaram entre 19,39 e 121,55 mg 100mL⁻¹, açúcares redutores entre 6,91 e 142,17 mg 100mL⁻¹ e sólidos solúveis totais entre 0,23 e 1,40 °Brix. Avancini et al. (2007) caracterizando amostra de água de fermentação de amido de mandioca, em condições laboratoriais, para estudo toxicológico da mesma, verificaram valores de 0,02 g 100mL⁻¹ para cinzas.

É possível observar que a água coletada em tanque de fermentação da polvilharia P6 (225 dias) foi a que apresentou os maiores valores dos parâmetros ATT, cinzas, açúcares redutores e SST.

3.2.2 Polvilho azedo

De acordo com a caracterização físico-química das amostras de polvilho azedo (Tabela 4), os valores encontrados de umidade das amostras de polvilho azedo ficaram entre 11,12 e 15,06%. Esses resultados estão de acordo com os obtidos por outros autores, que avaliaram a umidade de polvilhos azedos comerciais em diferentes estados do Brasil: 13,90 a 15,00% em Minas Gerais; 13,60 a 14,30% em Santa Catarina; 13,60% no Paraná e Mato Grosso do Sul (ASQUIERI, 1990; MAEDA, 1999; PEREIRA, 2001). Diniz (2006) encontrou umidade média de 13,88% analisando 12 amostras de polvilho azedo provenientes do estado de Minas Gerais. Vale ressaltar que a legislação vigente (BRASIL, 2005) não estabelece parâmetros de qualidade para o polvilho azedo, apenas para o amido de mandioca, sendo 18% de umidade o limite máximo permitido.

As diferenças observadas no teor de umidade entre as amostras são decorrentes da variação do tempo de exposição do polvilho durante a etapa de secagem, das condições climáticas existentes no momento da secagem e do tipo de sistema utilizado no processo, como por exemplo, o tipo de revestimento na elaboração dos jiraus utilizados para exposição ao sol das amostras.

A acidez titulável das amostras de polvilho azedo analisadas variou entre 1,66 a 7,05 mL de NaOH 1 mol L⁻¹/100g, enquanto o pH de

3,11 a 4,82. Segundo Cereda e Vilpoux (2002) uma acidez titulável superior a 7,0 mL de NaOH 1 mol L⁻¹/100g caracteriza uma fermentação muito intensa, enquanto volumes inferiores a 3,0 mL de NaOH 1 mol L⁻¹/100g caracterizam a quase ausência de fermentação. Ao avaliar 12 indústrias de polvilho azedo de diferentes regiões do estado de Minas Gerais, Diniz (2006) encontrou valores de acidez titulável de 1,97 a 7,43 mL de NaOH 1 mol L⁻¹/100g, e de pH entre 4,00 e 4,83. Enquanto Maeda e Cereda (2001) encontraram acidez inferior a 5,0 mL de NaOH 1 mol L⁻¹/100g em produtos provenientes do Paraná.

Os teores de cinzas das amostras ficaram entre 0,13 e 0,25 g 100g⁻¹, estando de acordo com os valores médios verificados por Ascheri e Vilela (1995) (0,20 g 100g⁻¹), Pereira et al. (1999) (0,21 g 100g⁻¹) e Ladeira e Pena (2011) (0,15 g 100g⁻¹).

Marcon et al. (2007) avaliando três amostras de polvilho azedo provenientes de diferentes regiões de Santa Catarina encontraram umidades de 13,68 a 14,75%; cinzas de 0,11 a 0,15 g 100g⁻¹, e pH de 3,77 a 4,27.

Tabela 4 - Caracterização físico-química de amostras de polvilho azedo coletadas em polvilharias do estado de Santa Catarina no período de julho de 2013 a julho de 2014.

Polvilharias	Umidade (g 100g ⁻¹)	ATT (mL de NaOH 1 mol L ⁻¹ /100g)	pH	Cinzas (g 100g ⁻¹)
P1	13,78 ± 0,08	1,66 ± 0,00	4,47 ± 0,01	0,13 ± 0,01
P2	14,85 ± 0,08	1,96 ± 0,01	4,82 ± 0,01	0,13 ± 0,02
P3	11,12 ± 0,04	2,14 ± 0,02	4,35 ± 0,02	0,15 ± 0,00
P4	11,25 ± 0,17	2,88 ± 0,13	3,57 ± 0,02	0,22 ± 0,01
P5	11,68 ± 0,22	5,24 ± 0,13	3,11 ± 0,01	0,22 ± 0,01
P6	12,22 ± 0,09	4,72 ± 0,00	3,15 ± 0,02	0,25 ± 0,01
P7	12,32 ± 0,03	7,05 ± 0,06	3,71 ± 0,01	0,23 ± 0,01
P8	15,06 ± 0,03	5,03 ± 0,02	3,80 ± 0,01	0,17 ± 0,01

Média ± Desvio Padrão.

ATT: acidez total titulável (em base seca).

Cinzas (em base seca).

As amostras analisadas são produtos destinados ao mercado, destacando-se as grandes diferenças encontradas nos parâmetros físico-químicos avaliados e a utilização do polvilho azedo, em especial pelas panificadoras, os resultados não são positivos para este setor, uma vez que o mercado espera pela padronização para a garantia da qualidade dos produtos nos quais o polvilho azedo será utilizado. Enquanto a produção artesanal e produto da agroindústria familiar são pontos a serem valorizados, sob o aspecto sócio econômico, a indústria do polvilho azedo necessita absorver as experiências dos trabalhos publicados há mais de quatro décadas, possibilitando a sua sustentabilidade.

3.3 QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS

3.3.1 Águas de fermentação

Quanto as concentrações de ácidos orgânicos nas amostras de águas de fermentação (Tabela 5), é possível observar que para o ácido láctico foram encontrados valores de <LOD a 2922,11 mg L⁻¹, sendo que a maior concentração foi da amostra coletada na polvilharia P2 (14 dias), nesta o ácido láctico representou 94,70% do total de ácidos orgânicos analisados. Para o ácido acético foram verificadas concentrações entre 147,70 e 1764,04 mg L⁻¹, representando de 4,79 a 33,57% do total de ácidos. O ácido propiônico apresentou a menor representatividade nas amostras (8,94 a 16,54%), com concentrações de <LOD a 1572,16 mg L⁻¹, sendo a maior para a amostra da polvilharia P6 (225 dias). As concentrações do ácido butírico variaram consideravelmente entre as amostras (15,92 a 4836,22 mg L⁻¹), com uma ampla faixa em relação ao total de ácidos orgânicos avaliados (0,52 a 66,05%). As águas de fermentação das polvilharias P6 (225 dias) e P9 (330 dias) foram as que apresentaram as maiores concentrações totais de ácidos orgânicos, 9505,20 e 6884,29 mg L⁻¹, respectivamente, sendo que mais de 50% desse total foi de ácido butírico.

Tabela 5 - Concentração de ácidos orgânicos e % do total de ácidos em amostras de água de fermentação de amido de mandioca coletadas em polvilharias do estado de Santa Catarina no período de julho de 2013 a julho de 2014.

Polvilharias	Tempo no tanque de fermentação (dias)	mg L ⁻¹ e % do total de ácidos								
		Ácido lático		Ácido acético		Ácido propiônico		Ácido butírico		Total
P1	7	2457,45 ± 6,32	87,49	330,65 ± 6,51	11,77	<LOD	-	20,73 ± 0,98	0,74	2808,83
P2	14	2922,11 ± 1,44	94,70	147,70 ± 4,06	4,79	<LOD	-	15,92 ± 1,48	0,52	3085,73
P3	30	142,30 ± 2,36	3,53	1005,29 ± 5,82	24,95	454,75 ± 7,02	11,29	2427,00 ± 3,52	60,23	4029,34
P4	40	129,44 ± 0,00	3,07	1414,93 ± 8,97	33,57	622,66 ± 7,29	14,77	2048,33 ± 3,50	48,59	4215,36
P5	80	<LOD	-	331,30 ± 3,64	23,30	151,45 ± 1,97	10,65	939,16 ± 4,42	66,05	1421,91
P6	225	1332,78 ± 6,86	14,02	1764,04 ± 9,51	18,56	1572,16 ± 5,36	16,54	4836,22 ± 6,95	50,88	9505,2
P9	330	1232,57 ± 6,49	17,90	957,68 ± 2,67	13,91	615,72 ± 2,09	8,94	4078,32 ± 3,97	59,24	6884,29

*Média ± Desvio Padrão.

LOD (ácido lático) = 3 mg L⁻¹ LOD (ácido propiônico) = 3 mg L⁻¹

Os valores verificados no presente trabalho foram superiores aos encontrados por Reginatto et al. (2009) que realizaram modificações no meio de fermentação do amido do mandioca, adicionando glicose como fonte de carbono e cloreto de amônio como fonte de nitrogênio, para verificar os seus efeitos sobre a produção de ácidos orgânicos e sobre as características do polvilho azedo. Na fermentação com adição de glicose, as concentrações verificadas pelos autores nas águas ao longo de 45 dias de processo variaram entre 0 e 650 mg L⁻¹ dos ácidos láctico e acético, aproximadamente 200 mg L⁻¹ do ácido propiônico, enquanto que o ácido butírico não foi detectado.

Essas concentrações de ácidos orgânicos das águas coletadas nas polvilharias também foram maiores do que as apresentadas no Capítulo 4, que realizou a caracterização de amostras de águas de fermentação de amido de mandioca, obtidas em condições laboratoriais. A maior concentração de ácido orgânico nas águas de fermentação analisadas foi a observada para o ácido butírico (1921,76 mg L⁻¹) na fermentação modificada, enquanto que no processo tradicional o maior teor desse ácido foi 1132,87 mg L⁻¹.

3.3.2 Polvilho azedo

De acordo com a Tabela 6, nas amostras analisadas de polvilho azedo as maiores concentrações de ácidos orgânicos foram observadas para o ácido láctico, que representou de 54,46 a 97,52% do total, com exceção apenas da amostra da polvilharia P2 (20,53%). A maior concentração, 7385,57 mg kg⁻¹, foi verificada no polvilho azedo da polvilharia P7. As temperaturas mínima e máxima registradas nas cidades onde estão localizadas as polvilharias desse estudo foram 10 e 24 °C, respectivamente. Sabe-se que em regiões frias, a fermentação é lenta com predomínio da microbiota láctica com uma maior frequência do *Lactobacillus plantarum*, enquanto nas regiões quentes, a fermentação é mais rápida e predomina a microbiota butírica, sendo o

Clostridium butyricum com maior relevância (SILVEIRA et al., 2003, LACERDA et al., 2005).

O ácido acético apresentou uma representatividade máxima de 13,10% do total de ácidos, correspondente a concentração de 322,29 mg kg⁻¹ na amostra da polvilharia P6. Enquanto que para os ácidos propiônico (1,16 a 15,34% do total) e butírico (3,44 a 51,74% do total) as maiores concentrações observadas foram 204,81 mg kg⁻¹ e 1450,65 mg kg⁻¹, respectivamente, no polvilho azedo da polvilharia P2.

Tabela 6 - Concentração de ácidos orgânicos e % do total de ácidos em amostras de polvilho azedo coletadas em polvilharias do estado de Santa Catarina no período de julho de 2013 a julho de 2014.

Polvilharias	mg kg ⁻¹ e % do total de ácidos								
	Ácido láctico		Ácido acético		Ácido propiônico		Ácido butírico		Total
P1	2753,31 ± 8,75	97,52	30,67 ± 2,08	1,09	39,29 ± 1,03	1,39	<LOQ	-	2823,27
P2	274,14 ± 2,76	20,53	165,50 ± 3,64	12,39	204,81 ± 1,76	15,34	690,79 ± 9,87	51,74	1335,24
P3	2076,72 ± 5,35	89,60	105,55 ± 1,71	4,55	55,67 ± 1,42	2,40	79,70 ± 1,95	3,44	2317,64
P4	1390,81 ± 6,69	82,65	117,00 ± 2,19	6,95	53,06 ± 0,48	3,15	121,84 ± 3,02	7,24	1682,71
P5	3448,48 ± 9,78	84,27	169,00 ± 2,76	4,13	110,33 ± 0,00	2,70	364,38 ± 3,37	8,90	4092,19
P6	1339,50 ± 3,38	54,46	322,29 ± 2,22	13,10	122,99 ± 4,88	5,00	674,90 ± 7,67	27,44	2459,68
P7	7385,57 ± 5,72	78,43	403,15 ± 5,38	4,28	177,36 ± 0,79	1,88	1450,65 ± 9,51	15,41	9416,73
P8	5745,70 ± 1,57	88,36	87,29 ± 6,71	1,34	75,21 ± 4,78	1,16	594,51 ± 3,00	9,14	6502,71

*Média ± Desvio Padrão (base seca).

LOQ (ácido butírico) = 20 mg kg⁻¹

Demiate et al. (1999) analisaram, por CLAE, 29 amostras de amido de mandioca fermentado das regiões Sul e Sudeste adquiridos diretamente das fábricas ou do comércio, e verificaram concentrações, em base seca, entre 120 e 830 mg kg⁻¹ de ácido láctico, 0 e 680 mg kg⁻¹ de ácido acético, 0 e 130 mg kg⁻¹ de ácido propiônico, 0 e 570 mg kg⁻¹ de ácido butírico, as quais são, de forma geral, inferiores as encontradas nas amostras de polvilho azedo coletadas em polvilharias de Santa Catarina, principalmente em relação ao ácido láctico. Cereda (1983), que analisou amostras de polvilho azedo dos estados do Paraná e de Santa Catarina, verificou uma maior concentração para o ácido butírico, seguido dos ácidos láctico e acético.

A principal justificativa para as avaliações das águas do processo produtivo do polvilho azedo se deve ao interesse na manutenção das empresas familiares no mercado, bem como da disponibilidade dos produtos para as gerações futuras. Com a presença dos ácidos orgânicos nas águas, o setor poderia futuramente projetar a comercialização dos mesmos diante da sua atividade conservadora, mediante a valorização destas águas como matéria prima. Porém, ao mesmo tempo, se o controle das características das águas tem relação com a qualidade do produto final, isto pode contribuir também para a padronização do polvilho azedo, através de conhecimento dos parâmetros que melhor revelam as propriedades do produto final. As variabilidades encontradas entre polvilharias, tanto para as águas quanto para o polvilho azedo, refletem o grande desafio da Ciência e Tecnologia de Alimentos, para a padronização destes processos e produtos.

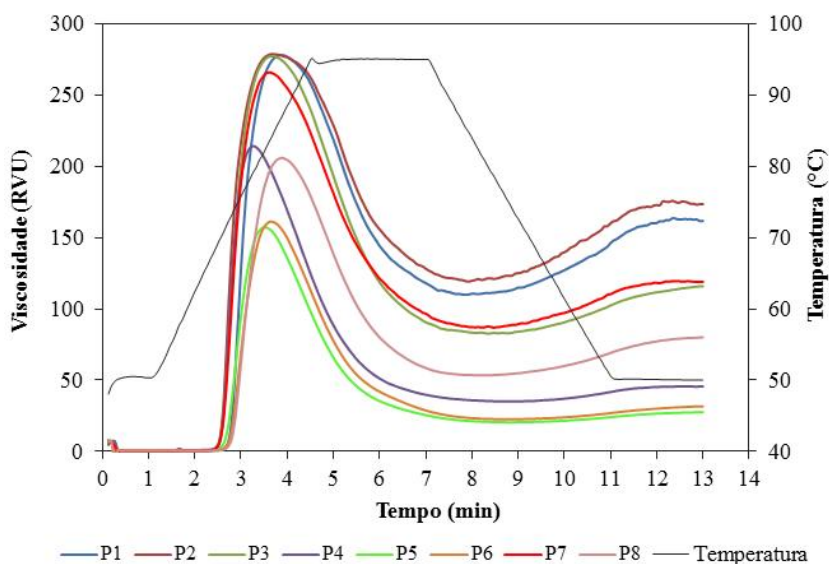
3.4 PROPRIEDADES DE PASTA

Embora a principal propriedade do polvilho azedo seja a expansão, o conhecimento das propriedades viscoamilográficas pode contribuir para a elucidação das alterações granulares decorrentes do processo produtivo. Observa-se na Figura 3 que as amostras

apresentaram curvas viscoamilográficas típicas, que se caracterizam por um incremento rápido da viscosidade até atingir o pico máximo, seguido de acentuada queda da mesma (PLATA-OVIEDO, 1998). Os valores de viscosidade máxima variaram entre as amostras, sendo que as amostras das polvilharias P1, P2 e P3 apresentaram os maiores picos de viscosidade (Tabela 7). A viscosidade máxima é importante para avaliação da qualidade do polvilho, uma vez que a fluidez pode interferir nos equipamentos a serem utilizados e dimensionados numa linha de produção, assim como na formulação do produto.

Alguns estudos relatam valores de viscosidade máxima em torno de 225 RVU para polvilho azedo e próximos a 380 RVU para o amido nativo de mandioca (GOMES et al., 2004; SANTISOPASRI et al., 2000; CHATAKANONDA et al., 2002). Os resultados encontrados no presente estudo variaram de 157,19 a 278,61 RVU.

Figura 3 - Amilogramas de amostras de polvilho azedo coletadas em polvilharias do estado de Santa Catarina no período de julho de 2013 a julho de 2014.



Breakdown, ou quebra de viscosidade, resulta da diferença entre a viscosidade máxima a quente e a viscosidade mínima da pasta. Através desta propriedade é possível avaliar a estabilidade do amido em altas temperaturas, cujos grânulos se rompem sob agitação mecânica. Na Tabela 7, observa-se que os polvilhos das polvilharias P3, P4 e P7 apresentaram os maiores valores de *breakdown* (179,00 a 194,89 RVU), ou seja, menor resistência à agitação a quente, comportamento este comum em polvilhos com elevado teor de amido danificado.

Tabela 7 - Propriedades de pasta de amostras de polvilho azedo coletadas em polvilharias do estado de Santa Catarina no período de julho de 2013 a julho de 2014.

Polvilharias	Viscosidade máxima (RVU)	<i>Breakdown</i> (RVU)	Viscosidade final (RVU)	<i>Setback</i> (RVU)	Temperatura de pasta (°C)
P1	277,80 ± 2,79	167,94 ± 1,33	161,58 ± 4,20	51,72 ± 3,32	73,10 ± 0,05
P2	278,61 ± 1,29	159,61 ± 1,76	173,42 ± 2,70	54,42 ± 2,34	69,95 ± 0,48
P3	277,25 ± 1,52	194,89 ± 1,46	115,83 ± 0,55	33,47 ± 0,84	70,00 ± 0,56
P4	214,07 ± 0,76	179,00 ± 0,87	45,61 ± 0,26	10,30 ± 0,08	70,58 ± 0,12
P5	157,19 ± 0,68	136,69 ± 0,38	27,61 ± 0,43	7,11 ± 0,13	72,60 ± 0,44
P6	161,08 ± 0,87	138,45 ± 0,91	31,67 ± 0,09	8,82 ± 0,46	74,10 ± 0,05
P7	265,61 ± 0,82	179,03 ± 0,54	118,89 ± 0,13	32,31 ± 0,17	70,87 ± 0,42
P8	205,72 ± 0,49	152,33 ± 0,92	79,97 ± 0,64	26,58 ± 1,50	74,08 ± 0,03

*Média ± Desvio Padrão.

A tendência à retrogradação expressa pelo *setback*, ou seja, pela diferença entre viscosidade final (a frio) e viscosidade mínima (de pasta), permite avaliar a diferença da viscosidade do gel durante a fase de resfriamento. A retrogradação do amido ocorre por efeito da recristalização das moléculas de amilose e amilopectina, através da formação de novas ligações de hidrogênio, resultando na formação de géis. Os valores dessa propriedade entre as amostras analisadas variaram entre 7,11 e 54,42 RVU, enquanto que as temperaturas de pasta ficaram entre 69,95 e 74,10 °C.

Adegunwa, Sanni e Maziya-Dixon (2011) avaliando os efeitos de diferentes tempos de fermentação nas propriedades de pasta de amostras de polvilho azedo encontraram valores de pico de viscosidade entre 333,17 e 380,75 RVU, *breakdown* entre 201,30 e 228,96 RVU, viscosidade final entre 149,88 e 167,75 RVU, *setback* entre 33,58 e 41,84 RVU e temperatura de pasta entre 63,78 e 65,14 °C para a amostra fermentada por 25 dias. Enquanto Alvarado et al. (2013) avaliando polvilhos azedos obtidos de dois diferentes genótipos de mandioca verificaram temperaturas de pasta de 62,8 e 66,2 °C, *breakdown* de 403 cp (33,58 RVU) e 504 cp (42,00 RVU), *setback* de 92 cP (7,67 RVU) e 52 cp (4,33 RVU).

Ao estudar as relações entre a expansão e a viscosidade, Marcon et al. (2007) concluíram que não ocorre relação direta entre a expansão e a viscosidade de pasta para amostras de polvilho azedo procedentes de diferentes polvilharias. Os autores observaram que as diferenças na viscosidade não comprometem o desempenho das amostras quanto à propriedade de expansão. Apesar de algumas amostras de polvilho azedo apresentar menores picos de viscosidade (P5 e P6), isso não comprometeu o desempenho da expansão, como pode ser observado também nesse estudo.

3.5 PROPRIEDADES DE EXPANSÃO

O índice de expansão das amostras variou entre 1,81 e 2,54 (Tabela 8). Pereira et al. (1999) avaliando amidos fermentados de fontes vegetais alternativas verificaram índices de expansão variando entre 0,88 e 1,99, para batata inglesa e polvilho azedo comercial, respectivamente. Enquanto que Ascheri e Vilela (1995) apresentaram índices de expansão variando entre 2,24 e 3,49 em fermentações conduzidas em tanque experimental, entre 1,80 e 3,34 em copo Becker na bancada e entre 1,80 e 3,69 em tanque industrial. O índice de expansão apresenta uma relação positiva com o volume específico e negativa com a densidade, como também foi observado por Aquino et

al. (2013), estudando amidos de mandioca fermentados em condições laboratoriais.

Tabela 8 - Propriedades de expansão dos corpos de prova produzidos com amostras de polvilho azedo coletadas em polvilharias do estado de Santa Catarina no período de julho de 2013 a julho de 2014.

Polvilharias	Índice de Expansão	Volume Específico (mL g⁻¹)	Densidade Específica (g mL⁻¹)
P1	2,02 ± 0,10	6,45 ± 0,02	0,16 ± 0,00
P2	1,81 ± 0,08	5,15 ± 0,11	0,19 ± 0,00
P3	2,25 ± 0,09	10,35 ± 0,15	0,10 ± 0,00
P4	2,42 ± 0,17	10,93 ± 0,55	0,09 ± 0,00
P5	2,35 ± 0,21	8,28 ± 0,26	0,12 ± 0,00
P6	2,54 ± 0,18	8,63 ± 0,15	0,12 ± 0,00
P7	2,12 ± 0,12	10,20 ± 0,13	0,10 ± 0,00
P8	1,92 ± 0,09	8,60 ± 0,13	0,12 ± 0,00

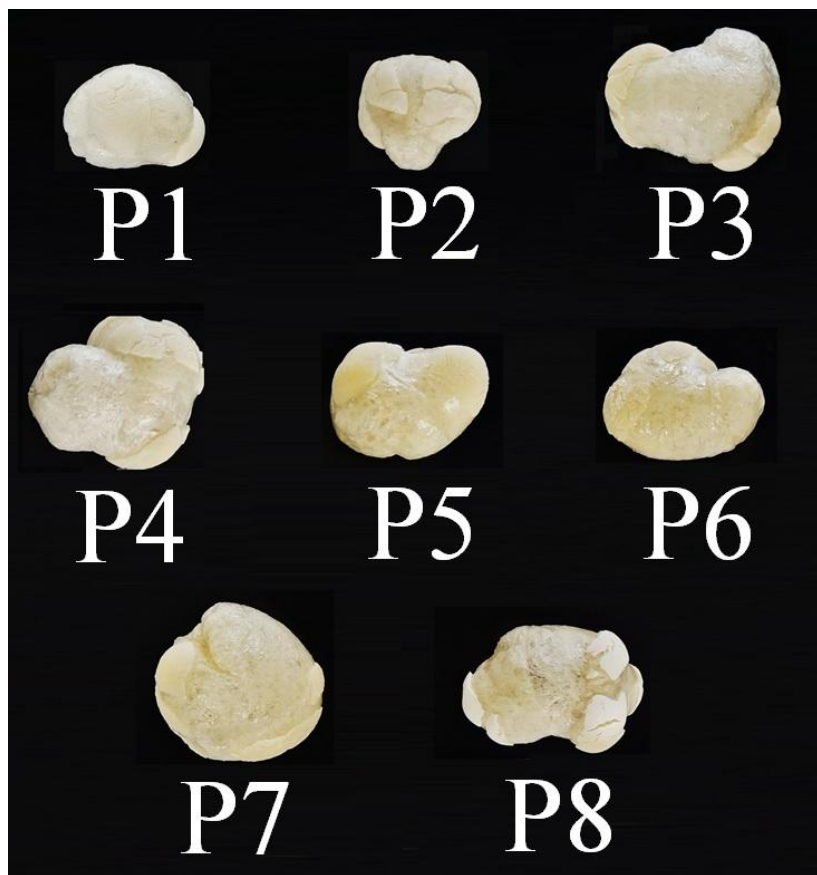
*Média ± Desvio Padrão.

Como mostram os resultados apresentados na Tabela 8 e na Figura 4, as amostras P3, P4 e P7 apresentaram os maiores valores de volume específico ($\geq 10 \text{ mL g}^{-1}$), sendo consideradas de expansão grande, enquanto que as demais foram médias, isso de acordo com a classificação estabelecida por Nunes e Cereda (1994) para classificar a expansão do polvilho azedo em pequena ($\leq 5 \text{ mL g}^{-1}$), média (de 5 a 10 mL g^{-1}) e grande ($\geq 10 \text{ mL g}^{-1}$). Alvarado et al. (2013) verificaram volumes específicos de 3,05 a $8,58 \text{ mL g}^{-1}$ avaliando polvilhos azedos obtidos de dois diferentes genótipos de mandioca, enquanto que a amostra de polvilho azedo analisada por Marcon et al. (2009) apresentou um volume específico de $10,07 \text{ mL g}^{-1}$.

Observando a Figura 4, confirmam-se as diferenças na propriedade de expansão das amostras de polvilho azedo de polvilharias

de Santa Catarina, reforçando uma falta de padronização preocupante envolvida nesse processo produtivo, interferindo diretamente na qualidade do produto e na posição deste no mercado.

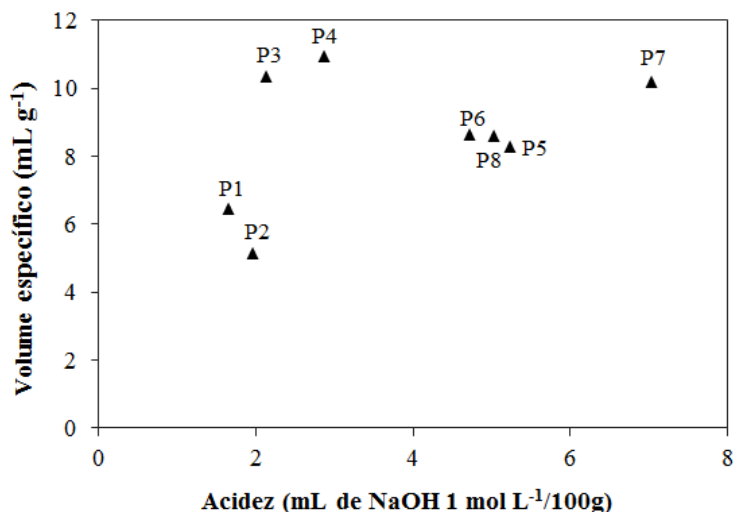
Figura 4 - Corpos de prova produzidos com amostras de polvilho azedo coletadas em polvilharias do estado de Santa Catarina no período de julho de 2013 a julho de 2014.



Fonte: Acervo do autor

Apesar de alguns estudos relacionarem a acidez do polvilho azedo à expansão dos biscoitos (BERTOLINI et al., 2001; VATANASUCHART et al., 2005), os resultados do presente estudo revelam que não há um efeito direto entre esses fatores (Figura 5). Marcon et al. (2009) afirmaram, de acordo com os resultados do seu estudo, que os parâmetros físico-químicos do polvilho azedo parecem ser insuficientes para estabelecer uma boa correlação com a sua capacidade de expansão.

Figura 5 - Influência da acidez na propriedade de expansão de amostras de polvilho azedo.



O baixo coeficiente de determinação entre a acidez e a expansão (no presente estudo $R^2 = 0,1546$) indica que embora a acidez seja empregada como parâmetro para definir a finalização da etapa do processo de fermentação do polvilho azedo (MARCON et al., 2006), a complementação do processo produtivo, com a secagem ao sol ou radiação UVC artificial, são indispensáveis para a boa performance do produto, ou seja, para que apresente propriedade de expansão.

4 CONCLUSÃO

A produção do polvilho azedo embora tradicional, não apresentou, entre as empresas avaliadas, práticas similares, que correspondessem a uma tendência à padronização do processo produtivo, resultando em diferenças nas características dos produtos obtidos.

A determinação de ácidos orgânicos nas amostras de água sobrenadante do processo fermentativo e de polvilho azedo indicou heterogeneidade quanto à ocorrência dos mesmos, tanto entre as empresas quanto entre os ácidos analisados.

A padronização das práticas produtivas pode representar uma importante iniciativa para minimizar as diferenças entre os polvilhos obtidos. O cenário apresentado confirmou que as variações, principalmente em relação ao tempo de fermentação, não permitem agrupar os amidos fermentados obtidos por parâmetros de qualidade que reflitam o processo empregado, o que dificulta o reconhecimento do produto para mercados mais exigentes.

REFERÊNCIAS

ADENGUNWA, M. O.; SANNNI, L. O.; MAZIYA-DIXON, B. Effects of fermentation lenght and varieties on the pasting properties of sour cassava starch. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 42, p. 8428-8433, 2011.

ALVARADO, P. M.; GROSMIRE, L.; DUFOUR, D.; TORO, A. G.; SÁNCHEZ, T.; CALLE, F.; SANTANDER, M. A. M.; CEBALLOS, H.; DELARBRE, J. L.; TRAN, T. Combined effect of fermentation, sun-drying and genotypes on breadmaking ability of sour cassava starch. **Carbohydrates Polymers**, v. 98, p. 1137-1146.

AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 18.ed. Gaithersburg, Maryland, 2005.

AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 16.ed., Gaithersburg, Maryland, 1999.

AQUINO, A . C. M. S.; PEREIRA, J. M.; WATANABE, L. B.; AMANTE, E. R. Standardisation of the sour cassava starch reduces the processing time by fermentation water monitoring. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, p. 1892-1898, 2013.

AQUINO, A.C.M.S.; AZEVEDO, M.S.; RIBEIRO, D.H.B.; COSTA, A.C.O.; AMANTE, E.R. Validation of HPLC and CE methods for determination of organic acids in sour cassava starch wastewater. **Food Chemistry**, v. 172, p. 725-730, 2015.

ASCHERI, D. P. R; VILELA, E. R. Alterações do polvilho de mandioca pela fermentação no fabrico de biscoitos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 269-279, 1995.

ASQUIERI, E.R. **Efeito da fermentação nas características da fécula de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) de três cultivares colhidas em diferentes épocas**. 1990. 109p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Minas Gerais.

AVANCINI, S. R. P. **Caracterização físico-química, microbiológica e toxicológica das águas de fermentação do amido de mandioca na produção do polvilho azedo**. 2007, 104 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2007.

AVANCINI, S. R. P.; FACCIN, G. L.; TRAMONTE, R.; ROVARIS, A. A.; PODESTA, R.; SOUZA, N. M. A. de; VIEIRA, M. A. ; AMANTE, E. R. Cassava starch fermentation wastewater: characterization and preliminary toxicological studies. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, p. 2273-2278, 2007.

BERTOLINI, A.C.; MESTRES, C.; RAFFI, J.; BULÉON, A.; LERNER, D.; COLONNA, P. Photodegradation of Cassava and Corn Starch. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.675-682, 2001.

BHAT, R.; KARIM, A. A. Impact of radiation processing on starch. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 8, p. 44-58, 2009.

BRASIL. Resolução, n. 263 de setembro 2005. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, p. 368-369, 2005.

CÁRDENAS, O.S.; BUCKLE, T.S. Sour cassava starch production: a preliminary study. **Journal of Food Science**, v. 45, p. 1509-1512, 1980.

CEREDA, M. P. Avaliação da qualidade de duas amostras de fécula fermentada de mandioca (polvilho azedo). **Boletim do SBCTA**, v. 17, n. 3, p. 305-320, 1983.

CEREDA, M.P.; NUNES, O.L.G.; VILPOUX, O. **Tecnologia da produção de polvilho azedo**. Botucatu. Centro de Raízes Tropicais (CERAT). Universidade Estadual Paulista. 1995.

CEREDA, M.P.; VILPOUX, O. **Polvilho azedo, critérios de qualidade para uso em produtos alimentares**. Fundação Cargill, Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas, 2002.

CHATAKANONDA, P.; CHINACHOT, P.; SRIROTH, K.; PIYACHOMKWAN, K.; CHOTINEERANAT, S.; TANG, H.,;HILLS, B. The influence of conditions of harvest on the functional behaviour of cassava starch-a proton NMR relaxation study. **Carbohydrates Polymers**, v.53, p.233-240, 2003.

CIACCO, C. F.; CRUZ, R. **Fabricação do amido e sua utilização**. São Paulo, Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia do Estado de São Paulo, 1982. 152 p.

CLIMATEMPO. **Climatologia**. Disponível em:
<<http://www.climatempo.com.br>>. Acesso em 05 de março de 2015.

DEMIATE, I. M., BARANA, A. C., CEREDA, M. P., WOSIACKI, G. Organic acid profile of commercial sour cassava starch. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n.1, p. 131-135, 1999.

DINIZ, I. P. **Caracterização tecnológica do polvilho azedo produzido em diferentes regiões do estado de Minas Gerais**. 2006. 101 f.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

EPAGRI. Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina. **Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina 2012-2013**. Disponível em:

<http://cepa.epagri.sc.gov.br/Publicacoes/Sintese_2013/sintese-2013.pdf>. Acesso em: 02 abr 2014.

GARCIA, A.C.D.B.; LEONEL, M. Efeito da concentração de ácido láctico sobre a propriedade de expansão em amidos modificados fotoquimicamente. **Ciência Agrotécnica**, v. 29, n.3, p. 629-634, 2005.

GOMES, A.M.M.; DA SILVA, C.E.M.; NAGILA, R.M.S. Effects of annealing on the physicochemical properties of fermented cassava starch (polvilho azedo). **Carbohydrate Polymers**, v.60, p. 1-6, 2005.

LACERDA, I. C.A.; MIRANDA, R. L.; BEATRIZ, M.; BORELLI, A.; NUNES, A. C.; NARDI, R. M. D.; LACHANCE, M.; ROSA, C. A. Lactic acid bacteria and yeasts associated with spontaneous fermentations during the production of sour cassava starch in Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 105, p. 213-219, 2005.

LADEIRA, T. M. S.; PENA, R. S. Propriedades físico-químicas e tecnológicas dos polvilhos azedos de três cultivares de mandioca. **Alimentos e Nutrição**, v. 22, n. 4, p. 631-640, 2011.

MACHADO, A.C.S.D.V.; DINIZ, I.P.; TEIXEIRA, M.A.V.; BIRCHAL, V.S. Estudo do efeito da secagem por radiação ultravioleta nas propriedades tecnológicas da fécula de mandioca fermentada. **e-xacta**, v. 5, n. 1, p. 7-14, 2012.

MAEDA, K. C.; CEREDA, M. P. Avaliação de duas metodologias de expansão ao forno do polvilho azedo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 2, p. 139-143, 2001.

MAEDA, K.C. **Proposta de classificação para o polvilho azedo**. 1999. 95p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, São Paulo.

MARCON, M. J. A.; KURTZA, D. J.; RAGUZZONI, J. C.; DELGADILLO, I.; MARASCHIN, M.; SOLDI, V.; REGINATTO, V.; AMANTE, E. R. Expansion properties of sour cassava starch (polvilho azedo): variables related to its practical application in bakery. **Starch/Stärke**, v. 61, p. 716-726, 2009.

MARCON, M. J. A.; VIEIRA, G. C. N.; DE SIMAS, K. N.; SANTOS, K.; VIEIRA, M. A.; AMBONI, R. D. M. C.; AMANTE, E. R. Effect of the improved fermentation on physicochemical properties and sensorial acceptability of sour cassava starch. **Brazilian Archives of Biology and Biotechnology**, v. 50, n. 6, p. 1079-1087, 2007.

MARCON, M. J. A.; VIEIRA, M. A.; SANTOS, K.; DE SIMAS, K. N.; AMBONI, R. D. M. C.; AMANTE, E. R. The effect of fermentation on cassava starch microstructure. **Journal of Food Process Engineering**, v. 29, p. 362-372, 2006.

MILLER, G. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. **Analytical Chemistry**, v. 31, p. 426-428, 1959.

NUNES, O.L.G.S.; CEREDA, M. P. **Metodologia para avaliação da qualidade de fécula fermentada de mandioca (polvilho azedo)**. In: Congresso Brasileiro de Mandioca, Salvador, 1994.

PEREIRA, J. **Caracterização química, física, estrutural e sensorial do pão de queijo**. 2001. 222p. Dissertação (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais.

PEREIRA, J. CIACCO; C. F.; VILELA, E. R.; TEXEIRA, L. S. Féculas fermentadas na fabricação de biscoitos: estudo de fontes alternativas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 2, p. 287-293, 1999.

PIZZINATO, A.; CAMPAGNOLLI, D. M. F. **Avaliação tecnológica de produtos derivados de farinhas de trigo (pão, macarrão, biscoito)**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1993. 54 p.

PLATA-OVIEDO, M. **Secagem do amido fermentado de mandioca: modificação química relacionada com a propriedade de expansão e características físico-químicas**. 1998. 114p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Campinas, 1998.

REGINATTO, V.; KURTZ, D.; MARCON M. J. A.; XAVIER J. J. M.; SCUSSEL, V. M.; AMANTE, E. R. **Modificação do Processo de Produção de Polvilho Azedo Visando o Aumento na Concentração de Ácidos Orgânicos na Água Residuária**. 2º International Workshop Advances in Cleaner Production. São Paulo, 2009.

RIVERA, H. H. P. **Fermentação de Amido de Mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz): avaliação e caracterização do polvilho azedo**. 1997. 131p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa (UFV). Viçosa, 1997.

SANTISOPASRI, V.; KUROTJANAWONG, K.; CHOTINEERANAT, S.; PIYACHOMKWAN, K.; SRIROTH, K.; OATES, C.G. Impact of water stress on yield and quality of cassava starch. **Industrial Crops and Products an International Journal**, v. 13, p.115-129, 2001.

SILVEIRA, I. A.; CARVALHO, E. P.; PADUA, I. P. M.; DIONIZIO, F. L. Isolamento e caracterização da microbiota ácido láctica envolvida no processo fermentativo para produção de polvilho azedo – parte II. **Pro Homine**, v. 2, n. 2, p. 7-15, 2003.

STATSOFT. **Statistica**. Versão 7.0. Tulsa, 2004.

VATANASUCHART, N. et al. Effects of different UV irradiations on properties of cassava starch and biscuit expansion. **The Kasetsart Journal: Natural Science**, v. 37, n. 3, p. 334-344, 2003.

VATANASUCHART, N. et al. Molecular properties of cassava starch modified with different UV irradiations to enhance baking expansion. **Carbohydrate Polymers**, v. 61, n. 1, p. 80-87, 2005.

WESTBY, A.; CEREDA, M. P. Production of fermented cassava starch (polvilho azedo) in Brazil. **Tropical Science**, v. 34, n. 2, p. 203-210, 1994.

CONCLUSÕES

A fermentação com adição de glicose, processo modificado, reduziu o tempo do processo fermentativo em 40,6% (13 dias), e o polvilho azedo obtido por esse método apresentou, em apenas 19 dias de fermentação, propriedades de expansão semelhantes ou até mesmo melhores que as do polvilho azedo comercial analisado. A caracterização dos produtos da fermentação é muito importante para o melhor entendimento dos principais problemas relacionados aos processos de produção e à potencialidade do uso do polvilho azedo. O controle dos parâmetros de processo poderão assegurar teores regulares de compostos de interesse nas águas residuais, bem como maior homogeneidade dos produtos elaborados a partir do polvilho azedo.

Diante da importância de monitorar as concentrações de ácidos orgânicos durante o processo fermentativo de amido de mandioca e da necessidade de agregar valor à água residual da produção do polvilho azedo, ambos os métodos de CLAE e EC descritos nesse trabalho foram validados para a identificação e quantificação dos ácidos láctico, acético, propiônico e butírico nesse tipo de amostra. Todos os parâmetros de validação estão de acordo com as exigências da legislação brasileira e não foram verificadas diferenças significativas entre os métodos em termos de performance analítica para os compostos analisados. No entanto, devem ser levadas em consideração as vantagens da EC em relação à CLAE, como menor custo, menor geração de resíduos e menor tempo de análise (< 2 minutos).

Nas fermentações por processos tradicional e modificado, em condições laboratoriais, as características físico-químicas das águas sobrenadantes e do polvilho azedo resultante desse processo comprovaram que os sólidos nelas presentes são derivados da decomposição do amido no processo fermentativo, em suas fases iniciais com produção de açúcares e incremento da acidez. Os ácidos acético e butírico predominaram tanto nas águas quanto nos polvilhos azedos produzidos pelos métodos tradicional e modificado, em escala laboratorial, sendo a produção desses ácidos influenciada diretamente

pelas temperaturas verificadas durante o processo fermentativo (de até 35 °C). Os resultados da análise multivariada mostraram que a principal característica do polvilho azedo, a expansão, apresenta baixa correlação com os ácidos orgânicos presentes no amido fermentado. Os ácidos produzidos na fermentação de amido de mandioca são encontrados tanto no produto seco ao sol, quanto nas águas residuais, as quais podem representar importante oportunidade de novos produtos para o setor produtivo.

Na avaliação do processo produtivo de polvilho azedo em polvilharias de Santa Catarina foi verificado que as mesmas apresentaram muitas diferenças nas práticas de produção, como tempo de fermentação variando de quatro dias a doze meses, o que colabora para a falta de padronização dos produtos obtidos, por exemplo, os valores de volume específico dos corpos de provas produzidos com as amostras coletas variaram de 5,15 a 10,93 mL g⁻¹. A determinação de ácidos orgânicos nas águas sobrenadantes do processo fermentativo e nos polvilhos também indicou heterogeneidade quanto à ocorrência dos mesmos, tanto entre as empresas, quanto entre os ácidos analisados. A padronização das práticas produtivas pode representar uma importante iniciativa para minimizar as diferenças entre os polvilhos obtidos, concorrendo para a padronização. O cenário apresentado confirmou que as variações, principalmente em relação ao tempo de fermentação, não permitem agrupar os amidos fermentados obtidos por parâmetros de qualidade que reflitam o processo empregado, o que dificulta o reconhecimento do produto para mercados mais exigentes.

Anexos

ANEXO A - Artigo “Standardisation of the sour cassava starch reduces the processing time by fermentation water monitoring” publicado no “International Journal of Food Science and Technology” (ISSN: 1365-2621)

International Journal of
Food Science & Technology

International Journal of Food Science and Technology 2013, **48**, 1892–1898



Original article

Standardisation of the sour cassava starch reduces the processing time by fermentation water monitoring

Ana C. M. de Sena Aquino, Juliane M. Pereira, Lucas B. Watanabe & Edna R. Amante*

Department of Food Science and Technology, Federal University of Santa Catarina, Rod Admar Gonzaga, 1346 – Itacorubi, Florianópolis, SC, CEP 88034001, Brazil

Acesso do artigo em:

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ijfs.12167/abstract>

ANEXO B - Artigo **“Validation of HPLC and CE methods for determination of organic acids in sour cassava starch wastewater”**
publicado no **“Food Chemistry”** (ISSN: 0308-8146)

Food Chemistry 172 (2015) 725–730



Contents lists available at ScienceDirect

Food Chemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodchem



Analytical Methods

Validation of HPLC and CE methods for determination of organic acids in sour cassava starch wastewater



Ana Carolina Moura de Sena Aquino, Mônia Stremel Azevedo, Deise Helena Baggio Ribeiro,
Ana Carolina Oliveira Costa, Edna Regina Amante*

Federal University of Santa Catarina, Department of Food Science and Technology, Rodovia Admar Gonzaga 1.346, 88034-001 Florianópolis, SC, Brazil

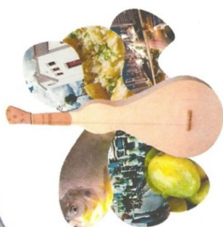
Acesso do artigo em:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614015283>

ANEXO C - Trabalhos apresentados em eventos



Certificado



V FOCAL
FÓRUM NACIONAL DE FORMAÇÃO ACADÊMICA E ATUAÇÃO PROFISSIONAL DO CIENTISTA DE ALIMENTOS
I SICITEA
SIMPÓSIO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
"Desafios e Tendências na Indústria de Alimentos"

Certificamos que o trabalho intitulado **CARACTERIZAÇÃO DAS ÁGUAS DE FERMENTAÇÃO DO AMIDO DE MANDIOCA PROVENIENTES DE DIFERENTES POLVILHARIAS DE SANTA CATARINA** de autoria de **AQUINO, ANA CAROLINA MOURA DE SENA; GERVIN, VANESSA MARIA; PEREIRA, JULIANE MASCARENHAS; RIBEIRO, DEISE HELENA BAGGIO; AMANTE, EDNA REGINA**, foi apresentado sob a forma de pôster no V Fórum Nacional de Formação Acadêmica e Atuação Profissional do Cientista de Alimentos (V FOCAL) e no I Simpósio em Ciência e Tecnologia de Alimentos (I SICITEA), realizado em Cuiabá—MT no período de 11 a 14 de junho de 2013.

Cuiabá—MT, 13 de junho de 2013.

Luiz José Rodrigues
Gestor do Evento

Roberto Vilela Vêloso
Diretor da Faculdade de Nutrição – UFMT

Realização



UNIVERSIDADE FEDERAL
DE MATO GROSSO



Faculdade de Nutrição



INSTITUTO DE
ALIMENTOS



FAPEMAT

Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de Mato Grosso

Apoio



Governo do
Mato Grosso
Mais por você





ADVANCES IN
FOOD PROCESSING
 CHALLENGES FOR THE FUTURE




INTERNATIONAL CONGRESS
 5-7 NOVEMBER 2014
 Royal Palm Plaza Hotel
 Campinas, São Paulo, Brazil

Certificate of Presentation

I hereby confirm that

Ana Carolina Moura de Sena Aquino, Mônia Stremel Azevedo, Vanessa Maria Gervin, Ana Carolina Oliveira Costa, Edna Regina Amante

Attended Advances in Food Processing 2014, 5th-7th November 2014 in
 Campinas, Brazil and presented

Determination of organic acids in wastewater of the sour cassava starch production
 by capillary electrophoresis

RMA



Robyn-Marie Towle
 For and on behalf of Elsevier Ltd

Centro de Estudos e Pesquisa em Alimentos - São Paulo Alimentos FAPESP	Deutscher Wissenschafts- und Innovationsrat - São Paulo Deutscher Wissenschafts- und Innovationsrat
---	---

Innovations in Attractive and Sustainable Food for Health
28th EFFoST Conference | 7th Food Factory for the Future Conference



25-28 November 2014 • Uppsala Konsert and Kongress, Uppsala, Sweden

FOOD FACTORY

Certificate of Presentation

I hereby confirm that

Ana Carolina Moura de Sena Aquino

Attended the 28th EFFoST Conference, 26-28 November in Uppsala, Sweden

and presented

Cleaner technology in food processing applied for sour cassava starch production

Ana Carolina Moura de Sena Aquino, Sandra Regina Paulon Avancini, Maria Janete Angeloni Marcon,
Juliane Mascarenhas Pereira, Luisa Marina Biazotto, Edna Regina Amante

Richard Hart

For and on behalf of Elsevier Ltd